

N° 479 - DÉCEMBRE 2022

l'actualité chimique

LE JOURNAL DE LA SOCIÉTÉ CHIMIQUE DE FRANCE

**DE LA VIGNE
AUX VINS**

NOTRE-DAME,
LA SCIENCE À L'ŒUVRE

MÉTALLOENZYMES
ARTIFICIELLES

Congrès SCF2023



26 – 28 juin 2023

**Cité des Congrès
de Nantes**

Chimie, Lumière, Couleur

**Week-end grand public
au Musée de Nantes :
24 – 25 juin 2023**

www.scf2023.fr | contact@scf2023.fr

l'actualité chimique

Édité par la Société Chimique de France
250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris
Tél. 01 40 46 71 60 – scf@societechimiquedefrance.fr
www.societechimiquedefrance.fr

Directeur de la publication : Stanislas Pommeret

Partenariats : CNRS, Fondation de la Maison de la Chimie

RÉDACTION

SCF, 28 rue Saint-Dominique, 75007 Paris
Tél. : 01 40 46 71 64 – redaction@lactualitechimique.org
www.lactualitechimique.org

Rédactrice en chef : Patricia Pineau

Rédactrice en chef adjointe : Roselyne Messal

COMITÉ DE RÉDACTION

J. Barrault, X. Bataille, C. Bresson, K. Cariou, P. Colombar, C. de Novion, K. Fajerweg, D. Fauque, J.-P. Foulon, J. Fournier, E. Gras, N. Griffete, C. Houée-Levin, F. Launay, J. Livage, E. Marceau, V. Marvaud, M.-T. Ménager, C. Monneret, N. Moreau, J.-M. Paris, P. Pichat, A. Picot, A.-V. Ruzette, S. Tencé, H. This, H. Toulhoat, P. Walter, S. Younes

Publication analysée ou indexée par :
Chemical Abstracts, base de données PASCAL

ABONNEMENT

SCF, Martine Maman
250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris
Tél. : 01 40 46 71 60/66
abonnement@lactualitechimique.org

FABRICATION

MAQUETTE : Redouane Sahih, sahih.redouane@gmail.com
Mag Design, www.magdesign.fr, mag.design@me.com
IMPRESSION, ROUTAGE : N. Fortin & ses fils imprimeurs
94800 Villejuif, fortimprimerie@wanadoo.fr

PUBLICITÉ

FFE, 15 rue des Sablons, 75116 Paris
Tél. : 01 53 36 20 40 – www.ffe.fr
aurelie.vuillemin@ffe.fr

ISSN version papier 0151 9093

ISSN version électronique 2105 2409

© SCF 2022 – Tous droits de reproduction réservés

Dépôt légal : décembre 2022

Toute représentation ou reproduction, intégrale ou partielle, fait sans le consentement de l'auteur, ou des ayants droits, ou ayant cause, est illicite (loi du 11 mars 1957, alinéa 1er de l'article 40). Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code pénal. La loi du 11 mars 1957 n'autorise, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, que les copies et les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective d'une part, et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans le but d'exemple ou d'illustration.



Un message d'espoir universel

Pourquoi sommes-nous passionnés par la chimie ? Parce que depuis qu'elle existe, elle innove grâce aux recherches et travaux d'illustres hommes et femmes. Les progrès sont fantastiques et pourtant tout n'est pas parfait : les pandémies, le réchauffement climatique, les incendies, les conflits, les inondations... Une forte prise de conscience et une passion collective pourront rendre le monde meilleur.

Un sauvetage inespéré

Un superbe livre consacré au sauvetage de Notre-Dame de Paris ravagée par un incendie le 15 avril 2019 illustre concrètement ce que la chimie apporte à cet immense chantier dont la fin est prévue pour 2024. Les auteurs donnent à découvrir, ou imaginer, les merveilles architecturales, picturales, et bien d'autres aspects de la cathédrale. Nous sommes tous impatients de découvrir le résultat, et comme la modernité rime avec le numérique, l'impossible devient une réalité : jamais vous n'auriez imaginé un double numérique de Notre-Dame et pourtant il existe !

La vigne et les vins sublimés par la chimie

La vigne, les vignobles, les vins, les arômes, les couleurs: une longue histoire qui vous est contée par une vingtaine d'auteurs tous passionnants et passionnés par la tradition et le progrès scientifique au profit de la qualité, de la diversité, du vin, du champagne, du cognac. Au-delà des incertitudes du climat et des « maladies de la vigne », les producteurs ont un arsenal de méthodes analytiques, optiques, et de secrets pour obtenir qualité et quantité. Admirez leur travail et dégustez avec modération.

La chimie touche à tout

Le sommaire illustre l'immense et inattendue diversité des champs d'activité de la chimie: au-delà des thèmes majeurs, vous découvrirez les métallo-enzymes artificielles et l'avenir des mousses poreuses. Nous espérons que le contenu vous séduira.

Bonne lecture !

Patricia Pineau
Rédactrice en chef

sommaire

N° 479 - DÉCEMBRE 2022

ÉDITORIAL

Un message d'espoir universel, par **P. Pineau**

1

1

CLIN D'ŒIL ÉTYMOLOGIQUE

À propos de limonènes, par **P. Avenas**

3

3

À PROPOS DE

Notre-Dame de Paris, la science à l'œuvre, par **P. Pineau**

4

4

DE LA VIGNE AUX VINS

6-60

Coordinateurs : Joël Barrault, Philippe Colomban et Jean-Pierre Foulon

Avant-propos, par **J. Barrault, P. Colomban et J.-P. Foulon**

6

Vigneron, un métier de chimiste ?, par **F. Brochet**

7

Des cépages aux vins : hybrides d'hier et d'aujourd'hui, par **O. Zekri**

13

Les (poly)phénols : de la vigne au vin, par **J. Vercauteren**

18

Les pigments des vins rosés, par **C. Leborgne, G. Masson, M.-A. Ducasse, A. Vernhet, J.-C. Boulet, N. Sommerer, J.-R. Mouret et V. Cheynier**

26

Du terroir à la bulle : la science du champagne, par **G. Liger-Belair**

33

Détermination des arômes d'une eau-de-vie de Cognac, par **C. Trarieux, S. Estreguil et V. Wilhelm**

42

RMN ¹H et authentification des vins, par **T. Richard, I. Le Mao et G. Da Costa**

49

Vers un contrôle des vins par spectroscopie Raman ?, par **F. Guillaume**

56

RECHERCHE ET DÉVELOPPEMENT

61

Les métalloenzymes artificielles : de la biocatalyse à la médecine, par **M. Beaumet, W. Ghattas et J.-P. Mahy**

61

EN BREF

66

AGENDA

68

ACTUALITÉS DE LA SCF

69

UN POINT SUR

71

Fiche n° 100 : Les mousses polymères poreuses : un avenir prometteur pour l'ingénierie chimique, par **D. Edouard et M. Michaud**

INDEX 2022

site*

* L'index est disponible uniquement en format pdf, téléchargeable librement sur le site de la revue (lien dans le sommaire en ligne de ce numéro).



Couverture :

« Éclatement », © Michel Rivault-Pineau.

Conception graphique : magdesign.fr

À propos de limonènes

Comme le montrent les écrits de Théophraste et de Pliny l'Ancien, les Anciens ne connaissaient qu'un agrume, le cédratier, en latin *citrus*, dont le fruit, le cédrat, se nommait en grec *Médikon mélon*, c'est-à-dire « pomme de Médie », et en latin *citrum*. C'est tardivement, au Moyen Âge et jusqu'au XVII^e siècle qu'ont été découverts, importés d'Asie et acclimatés tout autour de la Méditerranée, les divers agrumes connus aujourd'hui, dont les citrons et les oranges. On voit dans le tableau ci-dessous que les noms du cédrat sont d'origine latine ; ceux du citron viennent tantôt du latin, tantôt, par l'arabe, de son nom en persan, *limun*, d'où aussi les noms de certains petits citrons, *lime* (ou *citron vert*) et *limette* (ou *citron doux*), ou encore celui de la *limonade*, qui n'est pas une *citronnade*.

latin	italien	espagnol	anglais	français	allemand
<i>citrum</i>	<i>cedro</i>	<i>cidro</i>	<i>citron</i>	<i>cédrat</i>	<i>Zitronat</i>
	<i>limone</i>	<i>limón</i>	<i>lemon</i>	<i>citron</i>	<i>Zitrone</i>

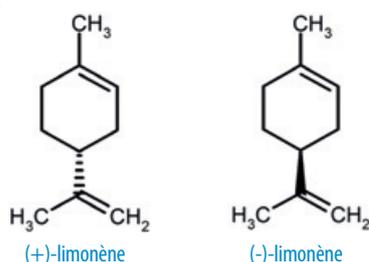
Linné a établi pour les agrumes le genre *Citrus*, avec deux espèces seulement en 1753. On en connaît aujourd'hui plus de trente, y compris des hybrides.

De citrène à limonène

Un limonène est un *terpène*, nom formé en 1863 de l'allemand *Terpentin*, « térébenthine », et plus précisément un monoterpène (hydrocarbure en C₁₀). Le camphre est aussi un monoterpène mais au sens large (hydrocarbure oxygéné en C₁₀). Ces termes n'étaient pas encore définis en 1833, alors que Jean-Baptiste Dumas présentait à l'Académie sa communication « *Sur les Camphres artificiels des essences de Térébenthine et de Citron* », où *camphre* désignait en fait un mélange monoterpénique analogue à celui tiré du camphrier. Dumas écrivait alors : « *Le corps que j'ai extrait du camphre de citron prendra le nom de citrène* », qui s'écrira ensuite *citrène*. Ce nom était dérivé du latin *citrus*, tout comme celui de l'acide *citrique* l'avait été dans la *Méthode de Nomenclature chimique* de 1787. Cependant, à la suite de Liebig qui a employé l'allemand *Limonen* en 1885, *citrène* a finalement été supplanté par *limonène* en 1887, *limonene* en anglais.

Les isomères de limonène

Il existe deux stéréoisomères de limonène, qui sont des énantiomères, c'est-à-dire des molécules symétriques l'une de l'autre par rapport à un plan, du grec *enantios*, « contraire, opposé », de *en + antios*, « opposé à », de *anti*, « en face de ». Ces molécules ont un pouvoir rotatoire sur la lumière polarisée, vers la droite pour le (+)-limonène (dextrogyre), vers la gauche pour le (-)-limonène (lévogyre). Le mélange des deux énantiomères à 50/50, optiquement inactif, est dit *racémique*, du latin *racemus*, « grappe de raisin ». En 1828 en effet, Gay-Lussac avait nommé *racémique* (*racénique* d'abord) l'acide tiré du tartre qui se dépose dans un tonneau de vin. Sur un sel de cet acide, Pasteur a montré en 1848 qu'une substance pouvait avoir une activité optique, dans un sens ou dans l'autre. L'acide a été renommé *tartrique* et le terme *racémique* a été conservé pour désigner un mélange inactif.

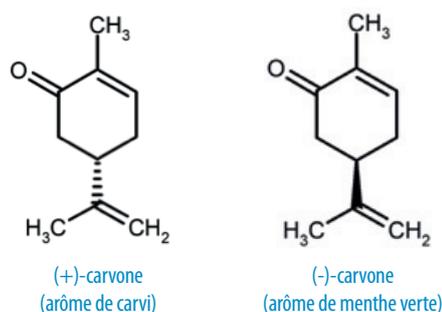


Dans le tome 7 paru en 1908 du 2^e supplément du dictionnaire Wurtz, on peut lire : « *Le limonène droit se rencontre dans les essences de citron, d'orange, de carvi, de bergamote, d'érigeron, de kuro-moji, de massoy, de néroli, de céleri, etc. Le limonène gauche existe dans les essences de menthe russe [variété de menthe verte] et d'aiguilles de conifères* ».

En effet, le (+)-limonène est le plus répandu, notamment dans tous les agrumes. Au contraire, le (-)-limonène est peu fréquent, et très rare dans les agrumes. On trouve aussi le racémique, appelé *dipentène*, qui s'utilise comme solvant.

Des limonènes aux carvones

Une carvone est le monoterpène cétonique correspondant à un limonène. Cette substance a été trouvée dans le carvi, ou *cumin des prés*, une plante connue depuis l'Antiquité pour ses graines bénéfiques. Il existe deux énantiomères de carvone, correspondant à ceux de limonène. La (+)-carvone est présente dans la graine de carvi et donne son arôme, et de même la (-)-carvone est présente dans la menthe verte et donne son arôme. C'est l'un des meilleurs exemples connus de l'influence de la chiralité sur l'arôme donné par une molécule.



Carvi, ou cumin des prés (Carum carvi)
(Köhler's Medizinal-Pflanzen, commons.wikimedia.org)

Épilogue

À la suite d'une publication dans *Science* de 1971, l'idée s'est répandue que les énantiomères (+) et (-) de limonène donnaient respectivement les arômes orange et citron. On peut retrouver de nombreuses évocations de cela dans la littérature. Cependant, une étude récente, publiée dans le *Journal of Chemical Education* (octobre 2021, 98, 3600) a remis en cause cette idée. La compréhension des arômes orange et citron fait donc intervenir d'autres constituants de ces fruits qu'un limonène, et cela reste un sujet de recherche pour l'avenir.

Pierre AVENAS,
ex directeur de la R & D dans l'industrie chimique.
pier.avenas@orange.fr

Notre-Dame de Paris, la science à l'œuvre

Notre-Dame de Paris

La science à l'œuvre

P. Dillmann, P. Liévaux, A. Magnien, M. Regert (dir.)

176 p., 35 €

Le Cherche Midi, 2022

Un livre collectif avec les contributions des plus grands spécialistes du CNRS et du ministère de la Culture, en partenariat avec l'établissement public chargé de la conservation et de la restauration de la cathédrale Notre-Dame de Paris.



Un livre superbe, alliant sciences, arts et souvenirs

Je ne peux taire ma joie de vous inviter à lire ce livre car je suis scientifique mais surtout, le 15 avril 2019, je descendais le Boul'Mich' pour prendre le métro à Châtelet et j'ai assisté à un spectacle qui a hanté mes nuits pendant des mois : « *Une minute peut blesser un siècle* » écrivait Victor Hugo en 1872.

Aujourd'hui, ce livre est réconfortant et donne tous les arguments pour croire à une merveilleuse reconstruction. Il se feuillette, se lit en profondeur, dévoile des faces cachées de cette cathédrale, raconte les talents et les exploits des scientifiques, artistes et artisans. C'est, sans nul doute, un magnifique livre et une idée de « cadeau de Noël ».

© Godéfruy Paris. Creative Commons CC BY-SA 4.0.



Des émotions et des temps forts

Chacun lit à sa façon et parcourra, à sa guise, l'ouvrage. Le sommaire peut inviter le lecteur à le suivre ou au contraire à picorer, et les images sont parfois tellement belles et impressionnantes qu'elles incitent à l'inspection. L'essentiel étant que le lecteur découvre Notre-Dame avant et après l'incendie, suive le parcours des scientifiques pour l'imaginer lorsqu'elle sera réouverte au public en 2024 avec sa grandeur, sa beauté, et un éclat que nous n'avons pas connu.

Une émotion patrimoniale

Un beau titre car Notre-Dame est un bien commun et son inimaginable vulnérabilité nous ramène à notre propre éternité. Dans la foule consternée du 15 avril, on entendait la peur de la perdre, de ne plus la voir, l'emprise des émotions

La cathédrale restaurée !

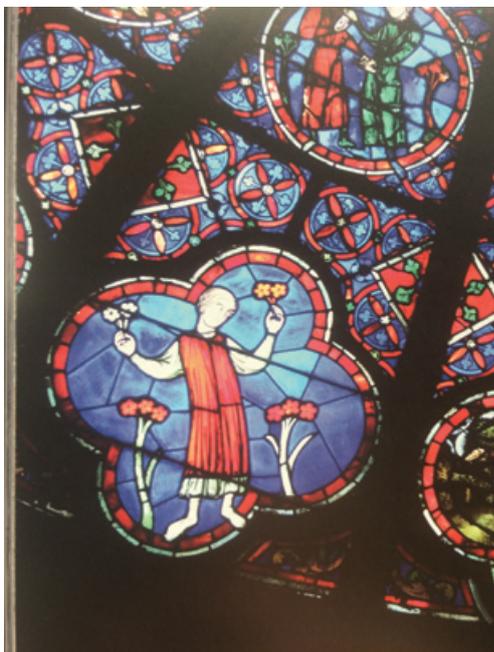
En attendant de revisiter Notre-Dame, les auteurs du livre vous initient à la force d'une collaboration remarquablement orchestrée. Tous les acteurs ont tenté le tout pour le tout, pour Notre-Dame ! Qui sont-ils ? Une variété de métiers : scientifiques, architectes, cordistes, charpentiers, métallurgistes, coloristes, peintres, photographes, éditeurs. Les mécènes sont aussi des acteurs incontournables.

Le sommaire du livre invite à un ordre de lecture, mais vous pouvez naviguer au gré de vos intérêts et passions. Je ne veux surtout pas vous orienter et pour avoir eu un itinéraire de lecture très dispersé, en coup de cœur, sur le titre, l'image, le souvenir ou l'émotion, je vous assure que vous aurez réponse à toutes les questions soulevées. Si par hasard vous échouez, il vous restera l'opportunité de contacter un des auteurs du livre ou d'attendre la réouverture au public, prévue en 2024.

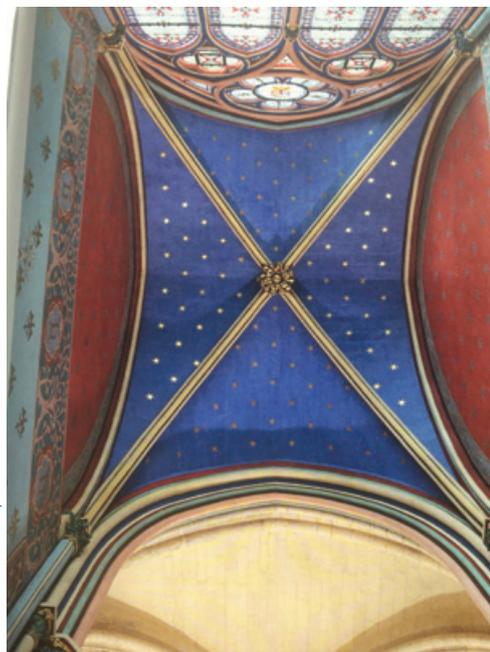
© C2RMF-Alexis Komenda.



© LRMH, Claudine Loisel.



© Marie-Hélène Didier, DRAC Ile de France.



© C2RMF Alexis Komenda.



Vous découvrirez le rôle des matériaux, le plomb à l'épreuve du temps et les rares vestiges, ou encore les voûtes avec l'art de la pierre et du calcul.

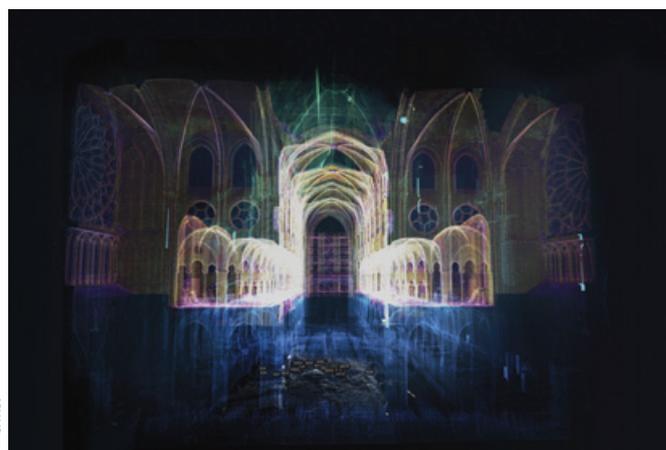
La plus grande surprise sera sans doute celle des couleurs d'origine de Notre-Dame retrouvées après le nettoyage méticuleux : une polychromie étonnante, chatoyante, superbe.

L'écho de la cathédrale et ses doubles numériques

Grâce à l'évolution des outils de modélisation, les scientifiques ont pu reconstruire les paysages sonores de Notre-Dame que nous découvrirons sur site, mais la simulation ouvre d'autres champs comme la création de doubles numériques protégés.

Et comme dans les jeux de piste, vous vous posez une question : quid du coq reliquaire retrouvé dans les bois calcinés ? Il se cache dans les bras de l'architecte en chef, Philippe Villeneuve.

© CNRS.



Patricia PINEAU,
Rédactrice en chef.

* redac-chef@lactualitechimique.org

était immense dans le monde entier : la presse, les réseaux sociaux, les chaînes de télévision rapportaient la destruction, et nous étions consternés. Mais l'intelligence collective, les avancées technologiques et cet engouement pour la sauvegarder ont déclenché une mobilisation mondiale : il faut sauvegarder ce trésor.

Naissance et apport du chantier scientifique

Le chantier ouvre un terrain de recherche, au-delà des dommages ; la cathédrale est encore debout telle que le Moyen Âge l'avait conçue. C'est ainsi qu'une synergie unique s'est installée avec intelligence et maîtrise.

Des milliers de vestiges ont été répertoriés pendant deux ans d'inventaire pour mener harmonieusement un chantier de restauration et un chantier scientifique.

À titre d'exemples, sans tous les citer, vous allez voir les imbrications entre les charpentes et la forêt : comment et où trouver les essences et les arbres aux dimensions requises ?

Avant-propos

Le secteur de la vigne et du vin génère en France chaque année plus de 10 milliards d'euros et près de cinq cent mille emplois, sans compter le tourisme œnologique et la place du vin dans notre vie sociale. Il existe plus de trois mille vins différents, seize régions viticoles, et pourtant les vignes n'occupent que 3 % des surfaces agricoles !

La chimie du vin a été peu évoquée dans *L'Actualité Chimique* [1-2]. Diverses étapes du passage de la vigne au vin et aux eaux-de-vie sont traitées dans ce dossier.

La viticulture est en pleine mutation avec le changement climatique. Un réchauffement au-delà de celui envisagé par la COP 21 conduirait à des impacts importants sur les vignobles français. Autrefois, les « anciens » plantaient des pieds de vigne pour cinquante ans au minimum. Aujourd'hui, ce ne sera que pour quarante ans au mieux, la chaleur fatiguant les ceps. En 2000, le taux d'alcool moyen était de 10 à 11 degrés ; il atteint actuellement 13 à 14 degrés... Les vendanges commencent avec plus d'un mois d'avance et se rapprochent des dates précoces du XVI^e siècle ! Les profils des vins sont modifiés : perte d'acidité, davantage d'alcool et d'arômes de fruits cuits...

Selon Frédéric Brochet, vigneron dans la Vienne, le métier n'est que chimie, ne serait-ce que par la composition du produit final qu'est le vin. Il rappelle que Pasteur fut le premier œnologue moderne de l'histoire des vins ; il travailla sur la stéréochimie de l'acide tartrique que l'on nomme en allemand « Weinsäure », littéralement « l'acide du vin ». L'auteur expose l'incidence de l'anhydride sulfureux dans la qualité gustative des vins pour éviter la désagréable odeur d'éthanal issu de l'oxydation de l'alcool du vin.

Olivier Zekri et son équipe présentent de nouvelles variétés de cépages issues de croisements naturels. Ces variétés hybrides doivent être résistantes aux maladies cryptogamiques (mildiou, phylloxera, pourriture grise...) et posséder des qualités identiques aux cépages actuels : c'est le défi réussi par une entreprise vendéenne, la première en Europe pour la production de ces nouveaux cépages.

Joseph Vercauteren nous invite à un voyage avec les polyphénols de la vigne au vin. Il y en a des milliers, balayant un spectre de 0,4 g/L dans les vins blancs jusqu'à 4 g/L dans les vins rouges. L'étude de leur biogénèse permet de les classer en familles. De nombreux mécanismes réactionnels permettent de comprendre les (bio)synthèses correspondantes. Avec humour, l'auteur précise que la présence d'eau (85 %) ne résulte que du raisin, et la nature est alors une fée bienfaitrice pour le vigneron car c'est justement la composition optimale pour extraire dans le pressoir les polyphénols de la peau et du pépin de raisin !

Véronique Cheynier et son équipe nous invitent à étudier la couleur des vins rosés : c'est une information immédiatement perçue par le consommateur car ils sont dans des bouteilles volontairement non teintées. Les pigments rouges des raisins sont des anthocyanes (c'est-à-dire des polyphénols) localisés dans les pellicules (ou peaux). Il est possible d'obtenir un vin blanc à partir d'un cépage noir en évitant la macération avant le

pressoir. En France, l'assemblage des vins blancs et rouges pour la production des vins rosés n'est pas autorisé, sauf dans de rares cas comme le champagne. La couleur ne dépend pas seulement de la durée de la macération mais aussi du cépage : ainsi un syrah donnera un vin rosé, même avec une macération très courte.

Gérard Liger-Belair présente les techniques d'élaboration du champagne conduisant à la formation du gaz carbonique et des bulles. De belles photos illustrent la thermodynamique du dégazage. Lorsque le bouchon de champagne saute, que le gaz carbonique est expulsé hors du goulot, une détente adiabatique abaisse la température du jet de gaz de plusieurs dizaines de degrés. Des cristaux submicroniques de carboglace se forment qui diffusent la lumière ambiante selon le régime de Rayleigh, faisant apparaître un nuage bleu-ciel. Le dégazage du champagne servi dans une flûte filmé avec une caméra à infrarouge montre que plus de 80 % du CO₂ s'échappe par la surface et seulement 20 % par les bulles.

Pour analyser les arômes d'un Cognac, Corine Trarieux va au-delà des appareils. La détection des arômes s'effectue par olfactométrie et chromatographie en phase gazeuse et donne une « carte olfactométrique » de près de quatre-vingt zones olfactives dans une eau-de-vie de Cognac ! Mais l'auteure indique que l'analyse d'un spiritueux ne peut en aucun cas être ramenée à cette seule composition analytique, et l'appréciation sensorielle lors de la dégustation est indispensable.

Quid des contrefaçons ? Un comité d'experts œnologues existe dans les cours de justice et est chargé d'examiner les recours concernant les fraudes éventuelles des vins. Tristan Richard et son équipe argumentent sur l'intérêt d'utiliser la RMN pour contrôler les origines géographiques, les cépages et les millésimes des vins. La RMN quantitative se révèle très efficace et l'auteur propose une approche statistique des données spectrales exploitables pour la traçabilité des vins.

Enfin, saviez-vous qu'un vin blanc peut émettre une lumière turquoise sous éclairage d'une lampe torche ultraviolet ? Les vins sont fluorescents ! [2]. François Guillaume et son équipe utilisent la diffusion Raman pour le contrôle analytique des vins. Usuellement, la fluorescence masque le signal Raman de bien plus faible intensité, et c'est avec succès que l'auteur propose d'employer une excitation laser à une longueur d'onde judicieusement choisie dans les extrêmes du spectre, le proche ultraviolet, combinée avec une exaltation plasmonique. Les spectres Raman de certaines molécules du vin sont alors exaltés et elles deviennent identifiables.

L'approche présentée au travers de ces articles n'est en rien exhaustive et montre la nécessité des connaissances chimiques sur la vigne et le vin.

**Joël BARRAULT, Philippe COLOMBAN
et Jean-Pierre FOULON**

[1] P. Coutos-Thévenot, J. Guillard, J. Barrault, Minimiser l'impact des maladies foliaires et du bois sur le vignoble par biocontrôle, *L'Act. Chim.*, **2018**, 427-428, p. 75-79.

[2] B. Valeur, L'étonnante fluorescence naturelle des vins, *L'Act. Chim.*, **2022**, 475, p. 10-11.

Vigneron, un métier de chimiste ?

Résumé De la vigne au verre, la filière viti-vinicole ne cesse de nécessiter de solides connaissances en chimie, si ce n'est pour produire mais au moins pour comprendre cette formidable aventure qui transforme la pluie et le sol en une boisson recherchée. De la chimie minérale à la chimie organique, de potentiel redox en pH, la chimie du vin a initié des ruptures dans cet univers scientifique. Un phénomène qui n'est pas à la veille de se terminer.

Mots-clés Vin, sulfites, arômes, tanins, thiols, TCA.

Abstract Winemaker, a job as a chemist?

From the vine to the glass, the wine industry requires a strong knowledge in chemistry, not only to make wine but also to understand the incredible process transforming rain and clay in such a brilliant beverage. Mineral chemistry, organic chemistry, potential redox, pH are very useful to the winemaker and wine has led to quite a number of main discoveries in this field of science. This process will certainly continue for a while.

Keywords Wine, sulfites, aroma, tanins, thiols, TCA.

La motivation

De la vigne à la cave, n'en déplaise aux incultes qui diabolisent le mot, le métier de vigneron n'est que chimie. Vignerons de tous pays, vous pouvez comme les cuisiniers faire vôtre, en la paraphrasant, la formule d'Hervé This : « *On dit que la chimie c'est de la cuisine, mais c'est la cuisine qui est de la chimie !* ». Je ne saurais dire si j'ai choisi de faire de la chimie parce qu'elle permettait de faire du vin ou du vin parce qu'il me permettait d'explorer toutes les facettes de la chimie.

La terre et ses éléments

Mais commençons par le début avec le premier mot du *triumvirat* d'Olivier de Serres qui donne naissance au breuvage de Bacchus : la terre. L'une des clefs des terroirs repose sur la composition chimique des sols, qui trouve son adéquation plus ou moins favorable avec les différents cépages et les différents porte-greffes qui les alimentent. Notion fondamentale qui traverse la chimie quasiment de bout en bout, la notion de pH du sol est fondamentale quant au choix desdits porte-greffes, de même que la composition minéralogique des sols (figure 1).

De solides connaissances en chimie minérale sont précieuses aux vignerons. Elles leur permettront de lire les paramètres essentiels d'une analyse des sols. La teneur en azote siège aux premiers rangs des valeurs à suivre car elle est déterminante non seulement pour la vigueur de la plante, mais aussi pour le risque de la voir attaquée par les parasites et pour l'expression aromatique des vins. Les équipes de Denis Dubourdieu ont ainsi apporté la preuve au début des années 2000 que l'alimentation azotée des cépages tels que le Sauvignon, le Colombard, ou le Verdejo, intervenait grandement dans la concentration en précurseurs de ces arômes thiolés [1]. Ces arômes sont en effet attachés à des acides aminés dont la synthèse est d'autant plus active que la teneur en azote est élevée.

La teneur en bore est également soigneusement surveillée car il constitue un élément indispensable à la bonne fructification qui, pour les viticulteurs, porte le nom de « nouaison ».

Les teneurs en carbonates ou en silice, en sus de la granulométrie, complètent le spectre d'analyse. L'analyse du cuivre



Figure 1 - Le sol, support de la viticulture et élément important du terroir, à la base de la catégorisation des vins en Europe, est le premier sujet d'exercice des connaissances de chimie du vigneron. Ici un sol argilo-calcaire au pH basique avec quelques éléments grossiers constitués de silice, eux-mêmes à base de silice.

est aussi nécessaire pour les sols destinés à la vigne depuis de nombreuses années, nous y reviendrons.

La vigne et ses dangers

Si le sol porte la vigne, il porte aussi de sérieux concurrents que sont toutes les plantes adventices qui perturbent son développement. Longtemps assuré par des moyens mécaniques, l'entretien du sol a lui aussi reçu « l'aide », si l'on peut dire, de la chimie.

Je ne reviendrai pas sur l'intérêt de connaître les mécanismes de biochimie qui président à la vie des plantes tels que la photosynthèse, ou la respiration, même si elles font appel à des molécules de tout premier plan !

C'est, malheureusement, dans la protection des plantes, que la chimie va se révéler particulièrement indispensable. Le fait est que depuis le milieu du XIX^e siècle, notre bonne vieille espèce de vigne européenne se trouve chaque année agressée par une petite cohorte de parasites pour le moins ennuyeux. Ils sont en effet susceptibles de ruiner toute une récolte en quelques jours et ont entraîné des crises de tout premier plan en Europe lors de leur arrivée depuis le continent américain. Juste retour des choses, si l'on peut dire, que cette distribution

de parasites après le génocide opéré sur les populations amérindiennes par les maladies européennes.

Le secours de la chimie

Si pour le premier des parasites (animal celui-là), le phylloxéra, la lutte biologique a pu rapidement être mise en œuvre, il n'en est rien des trois autres. Alors que le vignoble français est ruiné par le petit puceron « dévastateur », qualité si l'on peut dire qui va lui donner son nom de genre « vastatrix », les premiers moyens de lutte sont chimiques avec les seuls outils de l'époque. Le disulfure de carbone (CS_2) est utilisé en direct, injecté directement au pied de chaque cep pour lutter contre l'insecte. Dieu merci, la dangerosité du produit n'était pas connue ! Il faut néanmoins savoir que ce sont les vignobles les plus prestigieux qui, rétifs au principe du greffage, l'ont utilisé le plus longtemps. Autre temps, autres mœurs.

La lutte contre le mildiou, l'oïdium et le black-rot va se révéler autrement plus complexe.

Le mildiou va nécessiter des années de recherches et d'essais avant que le Bordelais Ulysse Gayon ne concrétise la désormais célèbre « bouillie bordelaise », à base de sulfate de cuivre. Il ignore à l'époque le mode opératoire de cette mixture qui ne sera explicité que des années plus tard. Il ignore aussi que plus d'un siècle après sa découverte, l'ion cuivre reste le pivot indispensable de toute lutte anti-mildiou. Il semble que ce soient de faibles concentrations en ion Cu^{2+} dans l'eau où germent les spores de mildiou qui en perturbent le bon déroulement. De bonnes connaissances en chimie des solutions vont vite faire comprendre que pour atteindre cette concentration, alors que le ciel se montre généreux en eau..., et que la solubilité du sulfate de cuivre dans l'eau est grande, il est nécessaire de « coller » le cuivre à la feuille en utilisant divers adjuvants, dont par exemple des dérivés de résine de pin. Cette astuce suffit rarement. Il est nécessaire d'appliquer régulièrement l'ion cuivre(II) sous différentes formulations. Mais le cuivre est un dangereux phytotoxique, même si à très faible dose il se révèle utile aux plantes, notamment pour ses vertus de catalyseur. Aussi le législateur a-t-il déterminé une dose maximale de cuivre utilisable annuellement... qu'il révisait régulièrement à la baisse. Le niveau toléré atteint tout de même 4 kg d'équivalent métal par hectare et par an !

Au cours des années très pluvieuses, il est très difficile d'assurer la protection du vignoble contre ce parasite. En 2018, le vignoble français, mené en agriculture biologique, a été fortement impacté par une épidémie exceptionnelle qui a emporté environ 35 % de la production à l'échelle du pays. En 1924, la perte avait été de 80 % et avait concerné tout le vignoble, le mode biologique étant alors bien loin des préoccupations tant des vignerons que des consommateurs... qui à l'époque étaient très majoritairement de solides buveurs !

La lutte contre l'oïdium, capable lui aussi de détruire une récolte en quelques jours, est plus simple et fait intervenir cette fois directement l'élément soufre dont les vapeurs perturbent la croissance du champignon *Uncinula necator*, responsable du fléau. L'usage d'un composé aussi simple et aussi « naturel » est couronné de succès depuis cent cinquante ans au point qu'il fut l'un des tous premiers produits phytosanitaires homologués. Seul bémol : les doses utilisées restent massives avec 25 kg diffusés sous forme de poudre, par hectare et par traitement (un à trois par an) !

La motivation était donc grande de mettre en place des moyens de lutte alternatifs basés sur des molécules de

synthèse. Plusieurs grandes familles de fongicides ont alors été développées depuis la fin de la Seconde Guerre mondiale. Cette fois, ce sont les connaissances en chimie organique du vigneron qui vont être mises à l'épreuve.

Le développement de ces « produits phytosanitaires », devenus produits de protection des plantes, désormais pour l'essentiel « agents de biocontrôle » dans la dynamique d'aseptisation générale de la société, est incontestablement responsable du maintien des rendements à des niveaux élevés et des principaux problèmes de pollution des espaces agricoles.

C'est toujours la connaissance de la chose chimique qui permet au vigneron de comprendre d'abord puis de former son opinion ensuite sur ces molécules, un temps fabuleuses, et désormais largement conspuées...

Une plante fragile

La vigne pointe malheureusement dans le trio de tête des cultures les plus traitées et donc les plus polluantes. On discute des détails mais l'ordre de grandeur est le suivant : la « liane de Bacchus » consomme 25 % de la chimie de lutte des plantes de l'hexagone alors qu'elle n'en occupe que 2,5 % de sa surface !

Comprendre que de nombreux antigerminatifs sont en réalité des antimitotiques puissants, dont les formulations sont parfois très proches d'anticancéreux, aide à prendre la sage décision de les abandonner. Connaître la chimie minérale, c'est comprendre que l'élément cuivre utilisé sur de longues années finira par causer un problème d'accumulation insoluble, et ce, malgré son apparent caractère « naturel » retenu par le législateur et le grand public, puisque autorisé dans le mode de production biologique !

Le vin et ses constituants

Le sage vigneron chimiste ne manque pas un jour de s'intéresser à la composition du produit final : le vin lui-même (figure 2). La chimie doit autant au vin que désormais le vin doit à la chimie. La figure tutélaire de la question est le grand



Figure 2 - Du raisin au vin : les raisins de cuve, tout comme leur jus, sont à de rares exceptions près très peu aromatiques. C'est au cours de la fermentation alcoolique que l'essentiel des composés volatils présents dans le vin vont être produits par les levures en parallèle de la production d'éthanol et de gaz carbonique.

Louis Pasteur. La thèse du grand homme portait en effet sur les particularités de l'acide tartrique, particulièrement mal nommé en français mais dont le nom allemand est bien plus explicite puisqu'il signifie en traduction littérale « acide du vin » (« Weinsäure »). C'est en quête de la caractérisation de cet acide que la notion de chiralité fut mise en évidence. Pasteur isola la forme d'acide L(+) tartrique seule présente dans le raisin, ouvrant ainsi la voie au très vaste sujet de la stéréoisomérisation (figure 3). Une plaque à l'embouchure de la rue d'Ulm à Paris commémore les faits.

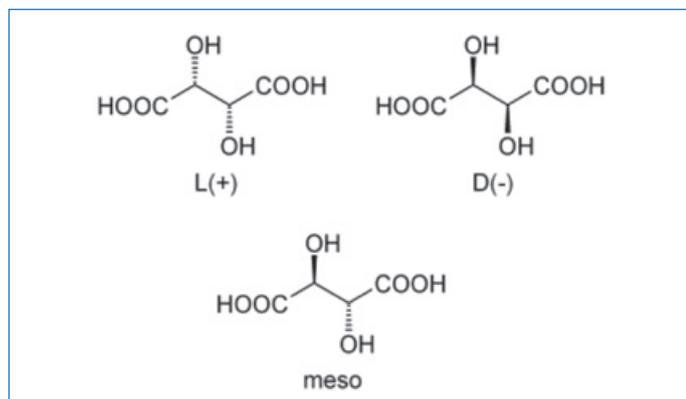


Figure 3 - L'acide tartrique, l'acide du vin et ses stéréoisomères ont constitué le sujet de thèse de Louis Pasteur.

La légende raconte que l'empereur Napoléon III eut vent de l'affaire, ou plutôt que ses conseillers en eurent vent, et que l'on décida de charger Pasteur d'un autre sujet qui concernait toujours les acides attribués, à juste titre à un facteur majeur de leur altération. L'acide acétique (CH_3COOH) était bien connu des chimistes, mais les facteurs de son apparition ne l'étaient point.

En apportant la preuve que la « piqûre » que l'on qualifia ensuite d'acétique était le fait de bactéries, Pasteur ouvrit la voie à la microbiologie. Quelque part, sans les vins qui tournaient au vinaigre, la découverte de la vaccination aurait attendu quelques années...

Pour ces travaux qu'il publia en 1866, Pasteur est souvent reconnu comme le premier œnologue de l'histoire. Il marque ainsi un attachement des œnologues et des vignerons à la chimie. Attachement encore très fort de nos jours puisque toutes les facultés françaises d'œnologie sont rattachées aux divisions pharmaceutiques des universités...

Depuis 1866 donc, les vignerons avertis savent que ce sont de plus ou moins grosses molécules qui sont responsables du goût du vin. De son goût au sens large, c'est-à-dire de sa saveur et de son odeur. Voilà un univers passionnant qui a connu ces dernières années des dizaines d'avancées stratégiques !

La molécule ciblée par le grand Pasteur (l'acide acétique) reste une préoccupation de tous les instants et elle est désormais placée sous contrôle légal. Un vin qui franchit la dose fatale de 1,2 g d'acide acétique par litre se voit retiré du marché ! Tous les acides sont soigneusement examinés par le vigneron. La lecture du pH est une donnée majeure du vin et du raisin avant la vendange, tandis que l'équilibre entre acide malique et acide lactique constitue une clef de l'équation sapide des vins blancs (figure 4). Tous les calculs de chimie minérale prennent sens en œnologie, en particulier lors du contrôle d'une famille de molécules qui font depuis quelques années les gros titres des revues d'amateurs de vins : les sulfites.

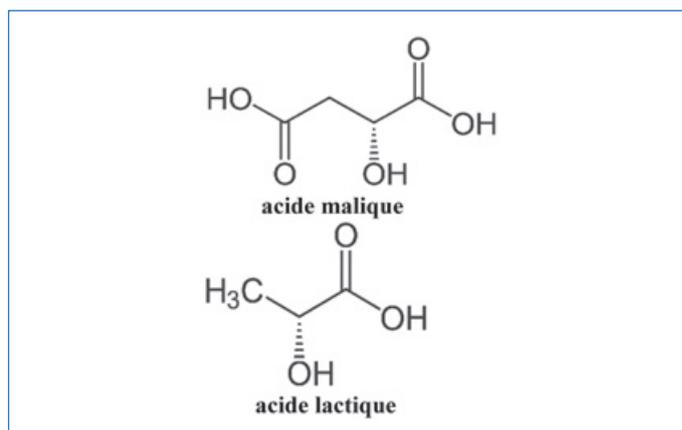


Figure 4 - La transformation de l'acide malique en acide lactique, connue sous le nom de fermentation malolactique, a été explicitée vers 1950 par les équipes de Jean Ribéreau-Gayon et Emile Peynaud [2].

On prétend que ce sont les Hollandais qui observèrent au XVIII^e siècle que la combustion de soufre dans les barriques conférait au vin une capacité de vieillissement supérieure et surtout une préservation des altérations... dont on ne connaissait pas la cause à l'époque. Il me semble que l'enseignement de la chimie pourrait s'appuyer sur cette belle molécule tant elle illustre les différentes facettes. Si la combustion d'un atome de soufre et d'une molécule d'oxygène génère une molécule de dioxyde de soufre (SO_2), cette dernière réagit très rapidement avec l'eau pour former de l'acide sulfureux (H_2SO_3) (parfois nommé abusivement anhydride sulfureux). Ce diacide faible aux pKa de 2 et 7 ne tarde pas à se dissocier dans l'eau en hydrogénosulfite et sulfite. On comprend bien que plus le pH du vin est bas – rappelons ici que le pH du vin est naturellement situé entre 3 et 4 –, plus la forme moléculaire H_2SO_3 sera proportionnellement représentée. Or c'est elle seule qui est responsable des propriétés antioxydantes, antiseptiques et fongistatiques de tous les dérivés de notre dioxyde de soufre, nommés sulfites. Cette molécule très réactive ne manque pas de s'attaquer à d'autres enzymes que celles des levures ou des bactéries : elle est responsable de fortes allergies et génère des maux de tête plus que conséquents.

Ainsi, non seulement sa présence est réglementée et limitée dans les vins en fonction de leur sensibilité, notamment aux dérives microbiennes, mais tous les vins qui en reçoivent doivent en indiquer la présence sous forme d'une mention claire sur l'étiquette. Le cahier des charges de l'agriculture biologique n'a lui-même pas pu se passer du précieux dérivé soufré malgré sa volonté de se passer de tout composé de synthèse ! Il en limite l'usage d'environ 30 % par rapport aux autres vins mais ne prend pas le risque d'aller au-delà.

La forte médiatisation du sujet « sulfite » et l'aspiration des consommateurs à des vins toujours plus naturels ont amené les vignerons à se passer de cet outil historique de conservation afin d'obtenir la mention « Vin sans sulfites ajoutés ». Mais comme nous l'avons déjà dit, le spectre de la molécule est si large que le style des vins s'en trouve profondément modifié. En effet, l'acide sulfureux dont le potentiel standard E° est particulièrement bas (0,2 V) réagit fortement avec l'un des principaux produits indirects de la fermentation alcoolique, le produit de l'oxydation de l'éthanol : l'éthanal. Cet aldéhyde en forte concentration possède une odeur forte de pomme blette (autrefois bien connue des enseignants lors de l'expérience de la lampe sans flamme posée dans le secondaire !). Les vins

sans sulfites ont souvent cette odeur qui disparaît aux premiers milligrammes de SO₂ ajoutés.

Autre spécificité, qui amène les vinificateurs à bien connaître les lois du potentiel redox, les vins sans sulfites doivent garder tout leur potentiel réducteur puisqu'aucun « antioxydant » ne les protège du dangereux oxygène. De ce fait, ces vins présentent une panoplie d'arômes dits « de réduction » liés à la présence de composés soufrés légers comme l'hydrogène sulfureux ou acide sulfhydrique (H₂S) (odeur d'œuf pourri) ou le méthionol (3-(méthylthio)-1-propanol CH₃SCH₂CH₂CH₂OH). L'art de la vinification sans sulfites est donc un art de l'équilibre.

La chimie fine et les arômes

Mais sortons de cette chimie élaborée mais qui traite de molécules simples pour entrer dans le registre des molécules élaborées dont la chimie n'est pas simple !

Il a fallu attendre les années 1990 pour que les premiers verrous de responsables moléculaires de l'arôme des vins sautent. Jusqu'à cette époque, passionné de chimie ou non, le vinificateur évoluait dans le flou. On ne connaissait presque rien des molécules responsables de l'identité des vins. À part quelques esters, c'était le « no man's land » !

Ce sont à la fois des équipes de Montpellier et de Bordeaux qui vont contribuer à ce qu'il convient d'appeler la révolution de la chimie fine des vins.

À Montpellier, l'équipe de Baumes, Razungles et Günata va identifier et doser une série de molécules assez concentrées dans l'arôme des vins [3], notamment issus de muscat ou de Riesling : les terpènes (figure 5).

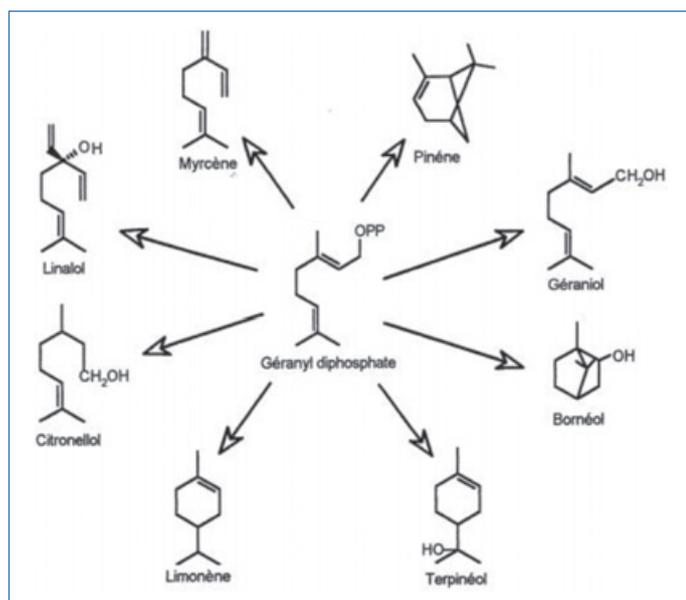


Figure 5 - Exemples de structure de monoterpènes, dérivés du géranyldiphosphate (IPP) (d'après [4], DR). Le linalol et le géraniol sont impliqués dans le bouquet des muscats et du Riesling, par exemple.

À Bordeaux, l'équipe de Denis Dubourdiu va percer le secret des arômes typiques du Sauvignon en identifiant une famille de molécules très faiblement concentrées : les thiols [1]. Leur histoire mérite le détour. De même que les bactéries resteront l'ennemi public numéro un du vinificateur pendant près de cent ans après les travaux de Pasteur, contraints d'attendre les travaux de Jean Ribéreau-Gayon et Emile Peynaud [2] pour retourner en grâce, les thiols ont longtemps été catalogués

comme des odeurs nauséabondes. Nombreux étaient les vins qui présentaient encore dans les années 1990 des odeurs fortes de sulfure d'hydrogène. Le traitement, assez radical, consistait en une adjonction directe dans le vin de sulfate de cuivre, ce dernier opérant une chélation des thiols volatils légers et la formation du complexe thiolate-cuivre en raison de la forte affinité du cuivre avec le soufre.

Aussi, l'idée que cette même famille de molécules puisse être à l'origine des qualités spécifiques des variétés aromatiques paraissait saugrenue. La première molécule identifiée fut la 4-méthyl-4-sulfanyl-pentan-2 one (figure 6), dont le seuil de détection olfactif dans l'eau est de quelques nanogrammes par litre. Elle est responsable de la nuance de buis si typique du Sauvignon. L'équipe de Denis Dubourdiu apportera la preuve que cette molécule est aussi présente dans le buis, le lanthana et... l'urine de chat. Cette lancée faite, plusieurs thiols seront identifiés, dont le sulfanyl-hexanol ou 3-mercapto-1-hexanol, à la délicieuse odeur de poire [5].

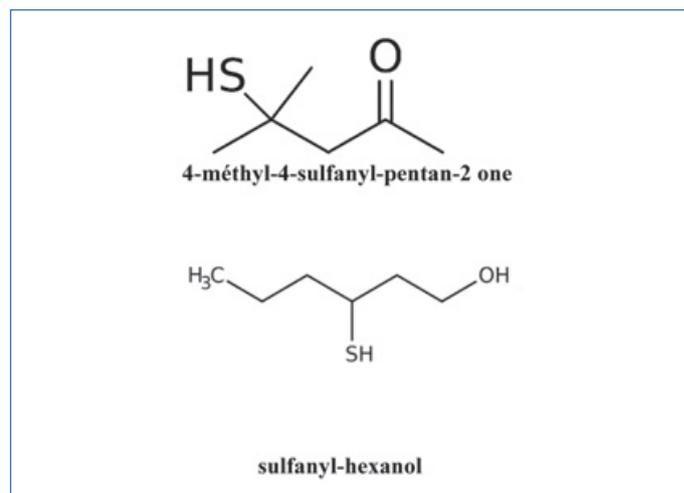


Figure 6 - Ces deux thiols au seuil de perception très bas, aux arômes de buis ou de pipi de chat pour la 4MMP et de poire fraîche pour le sulfanyl hexanol, ont ouvert la voie des recherches sur cette famille captivante.

Cette découverte a eu de grandes conséquences sur la vinification lorsqu'on a compris que toutes ces molécules se révélaient au cours de la fermentation sous l'effet d'enzymes assez spécifiques et encore davantage lorsque leur origine a été élucidée. L'expérience montrait que les vignes fortement carencées en azote assimilable ne produisaient pas de vins à forte concentration thiolée. Elle montrait aussi que les raisins et les moûts ne présentaient aucun arôme de ce type. Aussi, il est assez vite apparu que ces composés volatils existaient sous forme de précurseurs inodores dans le raisin, et que ce précurseur était composé de l'arôme thiolé attaché à un acide aminé particulier car présentant un atome de soufre : la cystéine. Au cours de la fermentation, la levure *Saccharomyces cerevisiae*, en quête d'acides aminés ou plus largement en quête d'azote, va venir prélever l'acide aminé du précurseur, relarguant ainsi comme « déchet » le délicieux arôme fruité. Bien sûr, l'équipement enzymatique qui permet cette « révélation » de l'arôme varie d'une souche à l'autre, ouvrant ainsi un angle de sélection des arômes tout à fait captivant. Notre vigneron amateur de chimie comprend vite que si l'arôme fruité « thiolé » est très sensible à l'oxydation, et à toute adjonction ou présence de cuivre dans le moût, le précurseur pour sa part ne l'est pas. Les précautions à prendre pour le vin ne sont pas les mêmes que pour le moût...

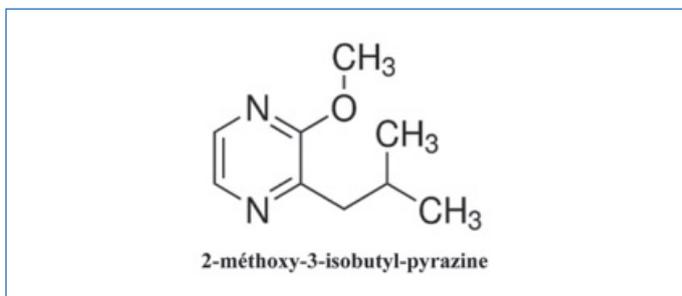


Figure 7 - Cette molécule, dont l'arôme évoque le poivron vert, ne connaît aucune transformation au cours de la fermentation.

D'autres molécules organiques contribuent aussi significativement au bouquet des vins. Parmi les plus symboliques, la 2-méthoxy-3-isobutyl-pyrazine (figure 7) détient l'un des records de seuil de détection olfactif humain dans l'eau puisqu'il s'approche du nanogramme par litre. Elle est associée à la nuance végétale de poivron vert, feuille de tomate, haricot vert de certains vins blancs ou rouges. Cette molécule fut identifiée en Australie et fait partie aujourd'hui des analyses courantes en œnologie. Contrairement aux thiols, elle est retranscrite quasiment directement du raisin au vin, laissant au seul vigneron le loisir d'en ajuster la teneur. Une fois le raisin coupé, il est impossible de modifier la concentration. Cependant, en raison du caractère hautement photosensible de cette molécule, une exposition au soleil des raisins dans les semaines qui précèdent la maturité permet d'en diminuer fortement la teneur.

Le responsable du goût de rancio a lui aussi été identifié : il s'agit du furfural, présent dans les vins de Rivesaltes, Banyuls, Porto (figure 8). De même, le goût du vin romain décrit par Pline l'ancien sous le vocable de « Drimus » a pu être rattaché au sotolon (figure 8).

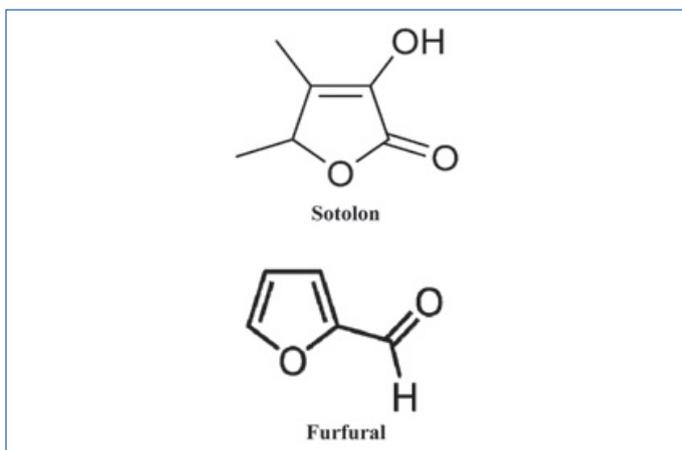


Figure 8 - Le sotolon et le furfural sont impliqués dans le bouquet des vins vieillis ou oxydés. Le sotolon est caractéristique du Xérès ou des vins jaunes du Jura.

Mais le chapitre des molécules odorantes responsables du bouquet des vins est loin d'être clos. La connaissance des arômes de cerise du Pinot Noir, de mûre du Syrah, reste très largement lacunaire.

La caractérisation des arômes apportés par le contact avec du bois de chêne, autrefois majoritairement réalisé en barriques, et utilisant désormais des moyens dits « alternatifs » tels que des plaquettes de bois, a aussi constitué un progrès majeur de l'œnologie que le vigneron utilise au quotidien. En distinguant les trois molécules essentielles dont les différentes proportions explicitent les différents types de boiserie, le vigneron

choisit ses barriques en pleine connaissance de cause. L'identité « noix de coco » est recherchée : on choisira du chêne américain, capable de délivrer de bonnes quantités de *Gamma lactone*. S'il est attaché à des nuances vanillées, c'est la vanilline qui sera recherchée, apportée par le chêne français bien grillé (figure 9).

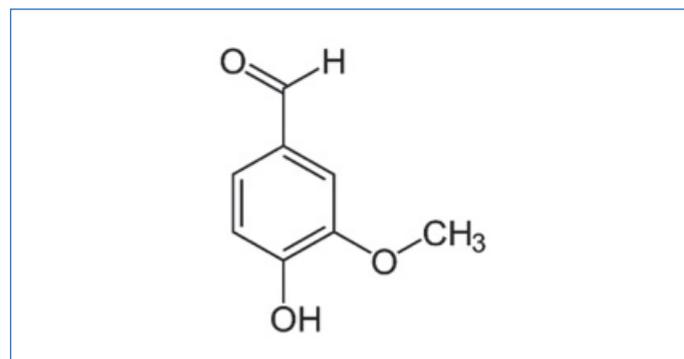


Figure 9 - La vanilline, une nuance apportée par le bois de chêne français.

En parallèle de ces quêtes qualitatives, la science œnologique a bien progressé sur le front des défauts avérés, au premier rang desquels figure ou plutôt figurait l'insupportable goût de bouchon [6]. C'est aussi au début des années 1990 que les molécules responsables de la perte de tant de bouteilles ont été explicitées. Le coupable est en grande majorité le 2,4,6-trichloroanisole, qui porte le sobriquet de TCA (figure 10).

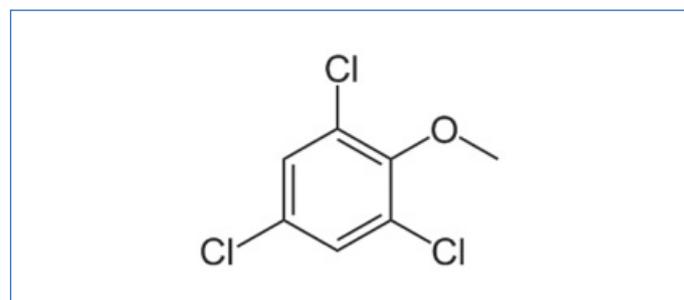


Figure 10 - Le 2,4,6-trichloroanisole (TCA), coupable du goût de bouchon.

Le fait que ces molécules contiennent du chlore a donné lieu à une totale évolution dans les méthodes de nettoyage des chais et de traitement du liège. Les dérivés chlorés y ont été proscrits. Là encore, après la caractérisation du support moléculaire du défaut, c'est toute la chaîne de réactions chimiques ou plus généralement biochimiques qui fut élucidée. On sait désormais que ce sont des moisissures qui attaquent le liège et sont en mesure de le corrompre, en utilisant de très faibles doses de chlore, présent dans l'environnement sous forme d'ions chlorure (Cl⁻). Le travail sur ces molécules n'a pas été simple car les quantités nécessaires pour polluer les vins ne sont que de quelques ng par litre. Tout ce travail a permis de quasiment éradiquer le goût de bouchon de l'industrie du vin. La technique de purification utilise la vapeur d'eau ou bien le CO₂ à l'état supercritique qui constitue un solvant exceptionnel bien que techniquement complexe à mettre en œuvre. Certains producteurs de bouchons sont capables de garantir à leurs clients des bouchons de liège naturel totalement exempts de tout « goût de bouchon ». Ce test est réalisé bouchon par bouchon à l'issue d'une chromatographie en phase gazeuse !

Quel avenir face au réchauffement climatique ?

Alors qu'elle était menacée il y a trente ans, l'industrie du liège se trouve paradoxalement renforcée par un enjeu de taille de la filière viti-vinicole dont on pardonnera le caractère tarte à la crème : le réchauffement climatique. Non seulement le liège n'a plus goût de bouchon, mais il est un formidable outil de compensation des émissions de carbone réalisées au cours de toute la chaîne de production. D'une part, les émissions de CO₂ de production d'une bouteille sont estimées à 450 g répartis pour 34 % à la vigne, 15 % à la cave, 29 % pour le verre, 6 % pour le carton et 13 % pour le transport ; d'autre part, un bouchon naturel séquestre 400 g de CO₂. Cet équilibre favorable est le fait d'une vitesse de croissance lente du chêne liège qui ne se récolte que tous les neuf ans au terme d'une période de croissance initiale de vingt cinq ans. Chemin faisant, il stocke des quantités considérables de CO₂, non pas seulement dans son écorce de liège, mais dans le bois constitutif de l'arbre – un arbre au cœur d'un écosystème assez diversifié et symbole du paysage du sud du Portugal.

Le réchauffement climatique est-il une bonne nouvelle pour toute la filière ? Bien que n'étant absolument pas un climatosceptique, je considère que nous devons voir dans cette catastrophe une forme d'opportunité. Les vins que nous buvons en 2022 n'ont rien à voir avec ceux que l'on buvait en 1992, ni bien sûr avec ceux que buvait mon grand-père pour son service militaire en 1922. Les raisons de ces évolutions sont multiples : techniques, économiques, sociétales. Alors que le vin était la boisson du quotidien, il est devenu un objet culturel auquel on se confronte au cours de séances aux codes bien différents. Les vins du Val de Loire, les vins anglais, n'ont jamais été aussi bons que de nos jours.

On peut se plaindre de l'augmentation de la teneur de la molécule la plus présente dans le vin, après l'eau, dont nous n'avons d'ailleurs pas parlé, l'éthanol, mais cette plainte est une plainte « artificielle » (figure 11). En effet, l'éthanol, dont la teneur est elle aussi nécessairement indiquée sur l'étiquette, influence grandement le bouquet et la saveur du vin. Du point de vue des composés volatils, l'alcool est le meilleur solvant comestible des composés volatils que nous apprécions : plus sa teneur est élevée, plus le bouquet est puissant.

En bouche, jusqu'à 14 ou 15 % volume, il apporte aussi une sapidité importante en même temps qu'il nourrit une dimension « sucrée ». Pour collaborer à divers projets de vins sans alcool, et selon le principe qu'on se rend compte de l'utilité d'une chose (ou d'un être) quand on en est carencé, je peux affirmer que privé d'éthanol, le goût du vin, rouge notamment, est beaucoup moins attirant. D'autre part, et il convient de ne pas se voiler la face en la matière, l'éthanol est le composé du vin qui génère une très forte accoutumance. Plus sa concentration est élevée, plus l'effet de drogue est élevé et plus la demande du consommateur est forte par le plus simple effet physiologique.

Au-delà du simple sujet alcool, l'évolution du climat va continuer à faire évoluer la carte des vignobles. Certaines zones vont devoir réviser leur mode de culture, les types de cépages doivent évoluer, comme cela a toujours été le cas. Je vois déjà les puristes s'indigner de voir leur vin favori changer de style. Et bien ils devront s'intéresser à d'autres régions, d'autres cépages pour retrouver des vins à « leur » goût, ou bien laisser tout simplement leur goût évoluer avec le climat, la mode, la technique et le mode de vie... comme c'est le cas depuis huit mille ans que nous fermentons le fruit de cette liane.



Figure 11 - Au fil des années et sous l'effet de l'évolution du climat, le multimètre ne cesse de monter ! La concentration en sucre des jus étant sans cesse plus élevée, la densité des moûts l'est aussi, entraînant une poussée d'Archimède sur cet outil ancien mais toujours utilisé (ici un degré fort).

Parcours œnologique

De chimie organique en chimie minérale, ce petit parcours œnologique nous aura montré combien la chimie sous toutes ses formes est omniprésente dans le quotidien laborieux d'un vigneron, et surtout combien sa connaissance donne à comprendre les arcanes de la fabrication et de la dégustation de la tisane de Richelieu !

Il en est de la chimie du vin comme de sa dégustation, c'est une forme de tonneau des Danaïdes dont on ne voit jamais le bout, et pour peu qu'on donne la plume à un amateur des deux, la fin vient bien trop tôt.

[1] P. Bouchilloux, P. Darriet, D. Dubourdiou, Quantitative determination of 4-mercapto-4-methylpentan-2-one in Sauvignon wines, *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **1996**, 30(1), 1112.

[2] J. Ribéreau-Gayon, E. Peynaud, *Analyse et Contrôle des Vins*, Paris Liège Librairie Polytechnique Ch. Béranger, **1958** ; J. Ribéreau-Gayon, E. Peynaud, *Traité d'œnologie*, 2 tomes, Librairie Polytechnique Ch. Béranger, **1961** ; J. Ribéreau-Gayon, E. Peynaud, *Traité d'Ampélogie. Sciences et Techniques de la vigne, Tome II, Culture Pathologie, défense sanitaire de la vigne*, **1971**.

[3] Z. Günata, I. Dugelay, J.-C. Sapis, R.L. Baumes, C.L. Bayonove, Action des glycosidases exogènes au cours de la vinification : libération de l'arôme à partir de précurseurs glycosidiques, *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **1990**, 24(3), 1231.

[4] M. Oswald, Déterminisme génétique de la biosynthèse des terpénols aromatiques chez la vigne, Thèse de doctorat, Université Strasbourg I, **2006**.

[5] T. Tomimaga, A. Furrer, R. Henry, D. Dubourdiou, Identification of new volatile thiols in the aroma of *Vitis vinifera* L. var. Sauvignon blanc wines, *Flavour Frag. J.*, **1998**, 13(3), p. 159-162.

[6] P. Chatonnet, G. Guimberteau, D. Dubourdiou, J.-N. Boidron, Nature et origine des odeurs de « moisi » dans les caves. Incidences sur la contamination des vins, *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **1994**, 28(2), p. 131-151.

Frédéric BROCHET,

Docteur en œnologie, La Mothe, 86380 Jaunay-Marigny.

* drbrochet72@gmail.com

Des cépages aux vins : hybrides d'hier et d'aujourd'hui

Résumé La culture de la vigne est millénaire, mais les variétés cultivées pour faire du vin n'ont pas toujours été les mêmes dans l'histoire. La viticulture de la première moitié du XX^e siècle a été marquée par l'usage de variétés hybrides, résistantes au phylloxéra mais donnant des vins de qualité très hétérogène. La culture des *Vitis vinifera* – les cépages que nous connaissons tous – a apporté des vins de qualité, mais la réduction drastique des usages de pesticides conduit la filière à ré-exploiter le potentiel des hybrides avec une nouvelle génération de variétés.

Mots-clés Vin, viticulture, variétés résistantes, pépinière, agroécologie, hybrides.

Abstract From grape varieties to wines: hybrids of yesterday and today

Cultivation of the grapevine is millennial, but the varieties cultivated to make wine have not always been the same in history. The viticulture of the first half of the 20th century was marked by the use of hybrid varieties, resistant to phylloxera but giving wines of very heterogeneous quality. The cultivation of *Vitis vinifera* – the grape varieties we all know – has brought quality wines, but the drastic reduction in the use of pesticides is pushing the sector to re-exploit the potential of hybrids with a new generation of varieties.

Keywords Wine, viticulture, resistant varieties, nursery, agroecology, hybrids.

Raisins et cépages

La vigne produit du raisin, et ce raisin a divers usages : il peut être mangé comme tel à table (raisin de table) ou séché pour être conservé et mangé plus tard (raisin sec). Il peut aussi servir à faire du jus, directement pressé, ou par le biais de la déshydratation servir de base à des jus de fruits divers sous la forme de jus de raisin concentré. Il est également utilisé aujourd'hui en cosmétique pour ses bienfaits liés à la conservation de la peau. Mais c'est probablement pour le vin qu'il est le plus connu, discuté, admiré, travaillé, élevé.

L'histoire de la viticulture est passionnante et a façonné bien des paysages à travers le monde. Elle est à l'origine de création de valeur pour de nombreux pays européens, à travers les vins développés dans chaque région, si divers par leur histoire, leurs caractéristiques, leurs qualités, leurs styles, leurs prix, et leurs cépages.

Aujourd'hui, la viticulture entre dans une nouvelle ère, où elle expérimente, à nouveau, une nouvelle vague de variétés issues de croisements naturels. L'Institut national de la recherche agronomique (INRAE), l'Institut français de la vigne et du vin (IFV), les services techniques des interprofessions viticoles françaises, des instituts étrangers, mais aussi des pépiniéristes privés comme les pépinières viticoles Mercier en Vendée, développent des programmes de croisements et déposent à l'inscription au catalogue de nouvelles variétés (plus de vingt nouvelles variétés inscrites depuis 2017 !).

Cette « révolution possible de l'encépagement dans les vingt prochaines années provoque beaucoup d'interrogations sur l'évolution que cela va apporter au secteur viti-vinicole, et surtout au niveau de la qualité des vins. En effet, si ces variétés sont attendues pour leurs résistances naturelles aux maladies cryptogamiques, on ignore encore si elles arriveront à produire la même qualité de vins que nous connaissons avec les cépages traditionnels.

Les hybrides limitent-ils les traitements phytosanitaires ?

Si ces variétés issues d'hybridation émergent, c'est avant tout pour réduire l'usage des produits phytosanitaires qui sont

utilisés de manière importante en viticulture ; 25 % des fongicides conventionnels utilisés en agriculture le sont pour le secteur viticole. Des molécules issues de la chimie de synthèse, utilisées en agriculture dite « conventionnelle », sont de plus en plus décriées et deviennent petit à petit interdites d'usage [1]. Mais il reste une quantité de molécules disponibles pour les viticulteurs. Voici quelques exemples des substances actives rentrant dans la composition des produits autorisés pour protéger la vigne contre le mildiou, l'oïdium, la pourriture grise et le black rot :

- Les cyanooximes (cymoxanil), les anilides (bénalaxyl, bénalaxyl-M, métalaxyl-M), les QoI-P (azoxystrobine, pyraclostrobine), les CAA (benthiavali-carbe, diméthomorphe, iprovali-carbe, mandipropamide, valifénalate), les produits à base de phosphonates (disodium phosphonate, fosétyl aluminium, phosphonate de potassium) ou encore le dithianon, le folpel, le mancozèbe, le métiram, sont des produits chimiques autorisés pour lutter contre le mildiou [2] (figure 1).

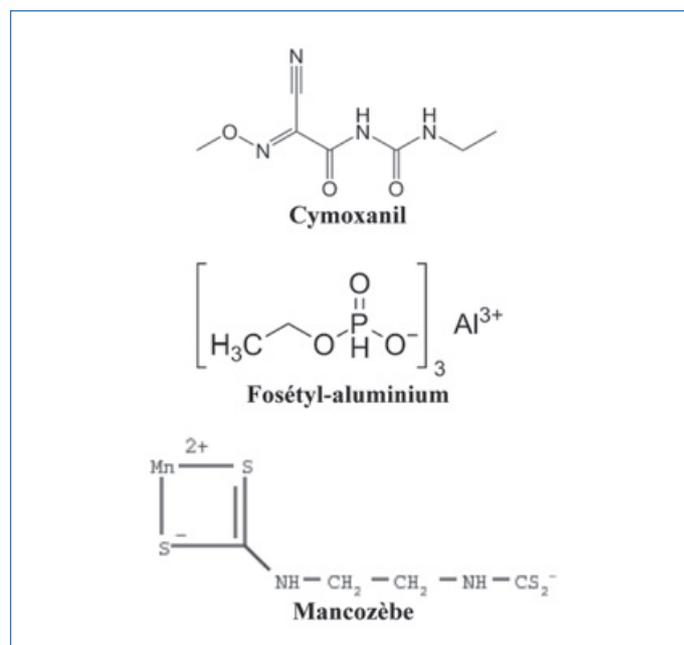


Figure 1 - Trois molécules les plus employées pour lutter contre le mildiou.

- Contre l'oïdium, citons entre autres le boscalide (pyridines-carboxamides), le fluopyram (pyridinyles-éthylbenzamides), le fluxapyroxade (pyrazolescarboxamides), l'azoxystrobine, le krésoxime-méthyle, le pyraclostrobine, le trifloxystrobine, le meptyl-dinocap, le difénoconazole, le fenbuconazole, le myclobutanil, le penconazole, le tébuconazole, le tétraconazole, le triadiméno... [2].

Beaucoup de ces groupes chimiques sont concernés par des phénomènes de résistance des champignons.

Aujourd'hui, la viticulture dite « biologique », c'est-à-dire n'utilisant pas de produits issus de la chimie de synthèse, autorise l'usage de cuivre et de soufre, souvent sous forme de sulfate de cuivre (la fameuse « bouillie bordelaise »), avec cependant des restrictions d'usage, notamment du cuivre, classé par l'EFSA (l'autorité européenne de sécurité des aliments) comme molécule préoccupante [3]. Avec un usage limité à 4 kg/ha et par an, ce métal lourd n'est parfois pas suffisant pour protéger nos variétés actuelles vis-à-vis des bio-agresseurs, les années de fortes pluies par exemple. L'usage de nouvelles variétés dites « résistantes » à ces bio-agresseurs devient donc de fait une nécessité.

Mais si ces variétés inquiètent autant qu'elles apportent de l'espoir, c'est que l'histoire de la viticulture française a déjà connu un épisode important de plantation de variétés issues d'hybridation. En effet, à la fin du XIX^e siècle, pour lutter contre l'arrivée d'un puceron qui ravagea le vignoble français (le phylloxéra), de nombreux hybrideurs s'attaquèrent à cette activité. Ainsi dès 1878, Millardet soumettait à l'Académie des sciences l'idée d'utiliser par l'hybridation « *la propriété de résistance qui doit être héréditaire comme les particularités de structure ou de composition chimique auxquelles elle est certainement liée* » [4]. Il pensait, comme beaucoup d'autres avec lui – Davin, Terras, Castel, Malegue, Oberlin, Seibel, Gaillard, Jurie, Baco... – que cette approche permettrait de résoudre rapidement le problème, et de préserver ainsi les niveaux de productions et de qualité du vignoble français.

Effectivement, plusieurs sources naturelles présentant une résistance au mildiou et à l'oïdium ont été identifiées dès la fin du XIX^e siècle et au début du XX^e siècle chez des espèces de *Vitis* d'origine américaine, comme *V. rupestris*, *V. lincedumi* ou *V. berlandieri*. Des croisements complexes entre vignes américaines et cépages européens ont été réalisés dans l'objectif d'obtenir de nouvelles variétés, résistantes à la fois à l'oïdium, au mildiou et au phylloxéra.

Ainsi, à la fin du XIX^e siècle et au cours de la première moitié du XX^e siècle, jusqu'à plus de 400 000 hectares vont être plantés avec des variétés hybrides sur le territoire français [5]. La décroissance de ces variétés va commencer à la fin des années 1950 avec un classement des cépages « recommandés » provenant de *Vitis vinifera* (figure 2) et des cépages « autorisés » produisant des vins « loyales et marchands » : les hybrides. Le classement de la CEE (Communauté économique européenne) à l'époque terminera de sceller le sort de ces hybrides producteurs directs en interdisant les vins issus d'hybrides pour faire des vins d'appellation.

Qualités des hybrides

Si ces variétés ont répondu à la problématique du moment de continuer une production de vins dans ce contexte, elles ont aussi contribué à développer une piètre réputation pour les vins issus de ces mêmes variétés dites « hybrides producteurs



Figure 2 - *Vitis vinifera* (Köhler's Medizinal-Pflanzen, commons.wikimedia.org).

directs », et également parfois celle des régions produisant ces vins.

La mauvaise réputation de ces variétés n'a d'ailleurs pas été liée qu'à la médiocre qualité de leurs vins, mais aussi à la présence de substances les rendant dangereux pour la santé. Certaines variétés hybrides ont même fait l'objet d'interdiction. En effet, un décret du 18 janvier 1935 a dressé une liste d'hybrides proscrits : le Noah (variété blanche), l'Isabelle, le Jacquet, l'Othello, le Clinton et l'Herbemont (variété noire). En tous cas, c'est ce qu'on disait. Légende ou réalité ? Guedes de Pinho a montré que de nombreux travaux avaient été engagés entre les années 1950 et 1970 sur le méthanol [6], notamment pour vérifier les allégations selon lesquelles certaines variétés rendaient fou (croyance autour de la production de méthanol, d'éther...). C. Dubus démontre que si l'on peut affirmer que les variétés hybrides – notamment le Noah, objet de l'étude – sont à l'origine de toxicité [7], celle-ci n'est en rien particulière aux variétés hybrides, mais simplement que le vin y a été consommé en trop grande quantité par une partie des populations de l'époque et que, comme souvent, c'est « la dose qui crée le poison ».

Le point central est que ces variétés ont toutes, de manière plus ou moins prononcée, et en fonction de la maturité des raisins, des sols et du climat, un goût dit « foxé ». Cette saveur est décrite par beaucoup comme « désagréable et persistante » ! On retrouve en effet un parfum de fraise des bois ou d'ananas. Plusieurs experts ont travaillé au cours du XX^e siècle à caractériser chimiquement l'origine de ce goût « foxé » et discriminer les hybrides producteurs directs des *Vitis vinifera*. Ainsi, Power et Chesnut ont mis en évidence la responsabilité

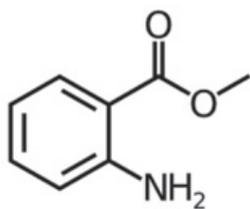


Figure 3 - L'antranilate de méthyle, responsable du goût « foxé ».

de l'antranilate de méthyle dans l'odeur foxée [8] (figure 3). Bien plus tard, on identifiera d'autres composés intervenant dans l'arôme de ces variétés : les 2- et 3-mercaptopropanoate d'éthyle aux odeurs sulfurées et fruitées, l'o-aminoacétophénone [9], les furanones, dont le 4-méthoxy-2,5-diméthyl-3-furanone à l'odeur de fraise [10]. Ces composés sont également présents dans le vin de *Vitis vinifera* mais à des concentrations bien plus faibles.

Par ailleurs, la plupart des vins hybrides rouges contiennent des quantités importantes de diglucosides d'anthocyanols, colorants rouges qui sont soit absents, soit présents à l'état de traces dans les vins de *Vitis vinifera* [11].

Nouveaux hybrides

Les variétés hybrides de « nouvelles générations » prennent en compte ces éléments. Les programmes de recherche de création variétale en Europe visent à obtenir des résistances durables avec des qualités organoleptiques à la hauteur des standards connus.

Le programme ResDur conduit par l'INRAE depuis plus de vingt-cinq ans a vu sa concrétisation en 2017 avec une

première vague de quatre variétés inscrites au catalogue – Floréal, Voltis, Vidoc, Artaban : deux blanches et deux rouges (figure 4) –, avec un fort niveau de résistance au mildiou et à l'oïdium [12]. Ces variétés sont aujourd'hui disponibles pour les vignerons pour faire des vins sans indication géographique, mais aussi dans certaines IGP (indication géographique protégée – anciennement les vins de Pays) et depuis peu dans certaines AOP (appellation d'origine protégée) comme le Voltis en Champagne par exemple !

Les programmes allemands WBI, JKI, Geisenheim – PIWI

En Allemagne, il y a une longue tradition de création variétale en vigne, gérée au niveau des régions. Trois centres sont à l'origine de nombreuses variétés résistantes au mildiou ou à l'oïdium. Nous pouvons citer par exemple l'Institut de Geisenheim [13] avec les variétés Regent ou Bianca, l'Institut de Geilweilerhof [14] avec les variétés Felicia ou Calardis blanc, ou enfin l'Institut de Fribourg [15] avec les variétés Cabernet Cortis, Prior, Monarc, Muscaris ou Sauvignier Gris. Ces variétés présentent des niveaux de résistances variables mais supérieures à celles des variétés de *Vitis vinifera*. La plupart d'entre elles sont désormais disponibles pour les viticulteurs français. Selon FranceAgriMer, près de 4,3 millions de plants ont été mis en œuvre cette année par les pépiniéristes [16].

Le programme suisse Agroscope

En Suisse également, l'Agroscope (INRAE Suisse) a développé ses propres variétés résistantes aux champignons [17]. Le Divico (en rouge) et le Divona (en blanc) sont les dernières créations de cet institut (figure 5).

Le programme italien – VCR

En Italie, la Coopérative de pépiniéristes du Frioul dans le village de Rauscedo développe aussi son propre programme privé de création variétale [18] ; une dizaine de variétés sont

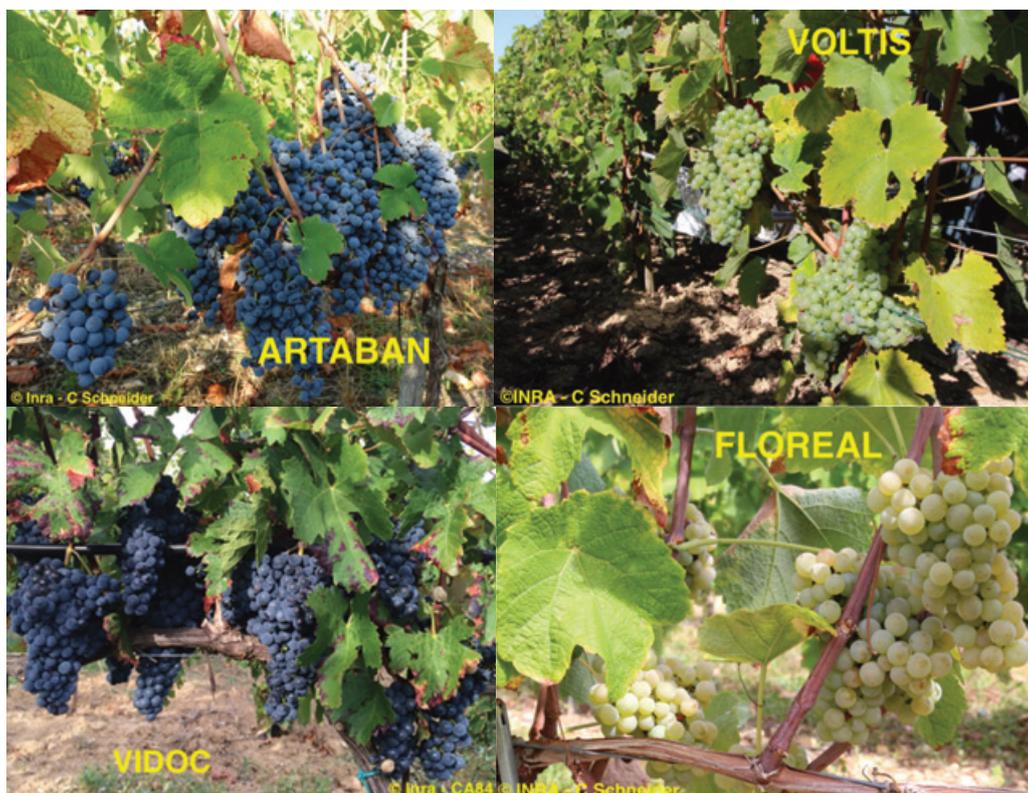


Figure 4 - Variétés ResDur 1 INRAE : Artaban, Vidoc (rouges), Floreal, Voltis (blancs).



Figure 5 - Variété Divico.



Figure 6 - Le Soreli, variété VCR.

ainsi disponibles en Italie. En France, le Soreli et le Fleurtaï, deux variétés blanches, peuvent aujourd'hui être plantées (figure 6).

Le programme français Mercier-NATHY

En France aussi il y a un programme privé de création variétale, dirigé par les pépinières viticoles Mercier en Vendée, leader en production de plants de vignes greffés pour la viticulture. Ce programme, appelé NATHY, vise à développer des variétés avec une résistance durable contre les maladies cryptogamiques, avec en parallèle le souci de conserver la qualité [19] (voir encadré). En outre, ces variétés doivent pouvoir conduire à des vins similaires à l'existant, avec si possible des rendements appropriés. Aujourd'hui s'ajoutent à cela certaines propriétés complémentaires pour répondre au réchauffement climatique. Sont recherchées des variétés à débourrement plus tardif pour éviter les gelées de printemps par exemple, ou des variétés plus résistantes au manque d'eau ou aux coups de chaleur.

Aujourd'hui, une variété issue de ce programme est déjà disponible pour les vignerons, le NATHY-Sauvignac®, une variété blanche, qui conduit à des vins vifs, frais et aromatiques [20] (figure 7). Elle est issue d'une série de six croisements successifs qui, au fur et à mesure des années et des croisements génétiques, ont donné des raisins avec une belle résistance conférée par les parents *Vitis spp.* et une belle aromatique apportée par les parents *Vitis vinifera*.

Le NATHY-Sauvignac® est la première variété d'un programme ambitieux, avec une bonne résistance au black rot, qui devrait permettre d'obtenir d'autres variétés résistantes dans les dix ans à venir.

Quand on examine aujourd'hui l'essentiel de l'offre disponible pour les viticulteurs, il manque pour l'instant des variétés rouges résistantes ayant les mêmes qualités que les *Vitis vinifera*. On remarque en effet que les variétés rouges disponibles manquent de « tanins ». C'est en fait un abus de langage

Encadré

Le programme NATHY

Ce programme, ambitieux, couple à la fois la rigueur technique d'un programme de sélection et la vision d'une grille de lecture simple pour les producteurs et les consommateurs [19].

Les ingénieurs et techniciens étudient pendant plusieurs années le comportement des plantes développées :

- les pépins obtenus à l'issue des croisements sont semés ;
- leurs caractères génétiques sont étudiés rapidement à l'aide de marqueurs pour savoir s'ils ont les facteurs de résistances recherchés (notamment la résistance au mildiou et à l'oïdium) ;
- une pousse rapide est alors engagée pour les multiplier, car à chaque fois il n'existe qu'un seul exemplaire du croisement (appelé « individu » ou « génotype ») ;
- ce génotype, une fois multiplié, est planté en parcelle d'expérimentation ;
- lorsque la taille est suffisamment grande (au bout de trois ans), les premières évaluations de résistances aux maladies sont réalisées ;
- la qualité des raisins, la qualité agronomique et celle des vins sont également évaluées.

Les variétés qui sont jugées suffisamment intéressantes sont alors présentées à l'inscription au catalogue des variétés.

Concernant le volet « grille de lecture », NATHY est une marque « ombrelle » [20] ; l'objectif à terme étant que les producteurs dans un premier temps, et peut-être les consommateurs dans un second temps, associent « NATHY » à la résistance naturellement apportée par les croisements. Un vin NATHY est un vin respectueux de l'environnement, pour lequel la résistance aux maladies fongiques est apportée par la plante et non par des produits phytopharmaceutiques.



car en réalité les tanins sont incolores et ce qui manque réellement à ces nouvelles variétés sont les anthocyanes, des molécules qui donnent couleur et arômes aux vins rouges... Les sélectionneurs examinent maintenant cette question.



Figure 7 - Le NATHY-Sauvignac® : une nouvelle variété du groupe Mercier.

L'arrivée de ces nouvelles variétés va également bouleverser les procédés d'élaboration du vin. En effet, il va falloir réapprendre les équilibres de maturité pour ces variétés « nouvelles », mais aussi apprendre à utiliser peut-être de nouvelles levures, mieux adaptées. Les producteurs de levures travaillent donc de concert avec les sélectionneurs pour isoler des levures plus à même de mettre en valeur la transformation des sucres et autres composants des jus de raisins de ces nouvelles variétés.

La viticulture de demain

Quelle est l'importance de ces variétés par rapport aux cépages traditionnels ?

Aujourd'hui, ces variétés résistantes de nouvelle génération n'occupent qu'une faible part du vignoble français, mais année après année, tandis que l'offre en variétés progresse et que le cadre réglementaire s'organise pour accueillir ce matériel, l'encépagement évolue également. C'est un phénomène lent mais qui ne va cesser de s'amplifier compte tenu des modifications climatiques. Au fur et à mesure des années, ce phénomène de renouvellement du vignoble par l'apport de nouvelles variétés, sans notoriété auprès du consommateur, pourrait bouleverser profondément la chaîne de valeur qui régit aujourd'hui notre secteur viticole, à savoir les AOP, les IGP et autres dénominations associant un cépage, une tradition, à un vin. L'INAO (Institut national de l'origine et de la qualité), organisme qui gère les systèmes d'appellation contrôlée, fait face à un formidable défi pour pouvoir intégrer petit à petit ces nouvelles variétés dans les cahiers des charges pour ne pas perdre l'identité et la force de nos appellations (qui sont aussi des marques puissantes). L'Institution a déjà commencé à le faire en autorisant les nouvelles variétés résistantes à intégrer les cahiers des charges des appellations, dans certaines proportions et à certaines conditions.

Économies d'intrants

Dans ce domaine, on peut maintenant considérer que le gain technique est considérable. La réduction de traitement apportée par ces nouvelles variétés est en effet significative puisque deux à trois passages de pulvérisateur sont suffisants alors que pour une variété traditionnelle, huit à quinze passages sont nécessaires selon les années. L'économie est donc substantielle à la fois sur le plan financier et environnemental.

La viticulture de demain devra, si elle souhaite continuer à tenir un rôle central dans nos sociétés et dans nos paysages, faire en sorte que la culture de la vigne permette non seulement d'obtenir des vins de qualité, mais qu'elle soit aussi vertueuse et exemplaire en matière de respect de l'environnement : c'est l'enjeu majeur de la filière pour les prochaines années !

- [1] <https://jardinage.lemonde.fr/dossier-4459-cepages-vignes-interdits.html>
- [2] Référentiel des produits phytosanitaires utilisables en viticulture en Val de Loire, Campagne 2018, https://centre-valde Loire.chambres-agriculture.fr/fileadmin/user_upload/Centre-Val-de-Loire/122_Inst-Centre-Val-de-Loire/Votre_Chambre/CA37/Publications/2018_Referentiel_Phyto_VALDELOIRE.pdf
- [3] Quel avenir pour le cuivre ?, *Réussir Vigne*, www.reussir.fr/vigne/quel-avenir-pour-le-cuivre
- [4] A. Chevalier, L'amélioration de la vigne en France et les travaux de G. Couderc sur l'hybridation et le greffage (suite et fin), In *Revue de botanique appliquée et d'agriculture coloniale*, **1925**, 52, p. 926-945, www.persee.fr/doc/jatba_0370-3681_1925_num_5_52_4353
- [5] Cépages et vignobles de France : Les vignes américaines, P. Galet, C. Déhan (eds), **1988**.
- [6] P. Guedes de Pinho, Caractérisation des vins de la région de Vinhos Verdes au Portugal : reconnaissance chimique et sensorielle des vins de cépages blancs non *Vitis vinifera*, Thèse de doctorat, Université Bordeaux 2, **1994**.
- [7] C. Dubus, Le Noah : le vin qui rendait fou ?, Thèse de doctorat, Université Bordeaux 2, **1999**.
- [8] F.B. Power, V.K. Chestnut, Occurrence of methyl anthranilate in grape juice, *J. Am. Chem. Soc.*, **1921**, 43, p. 1741-42.
- [9] T.E. Acree, E.H. Lavin, R. Nishida, S. Watanabe, O-amino acetophenone the "foxy" smelling component of labruscana grapes, In *Flavour Science and Technology*, Y. Bessiere, A.F. Thomas (eds), 6th Weurmann symposium, Wiley-Blackwell, **1990**, p. 49-52.
- [10] A. Rapp, J. Almy, M. Güntert, Identification of several sulfur-containing components in wine, *Am. J. Enol. Vitic.*, **1985**, 36, p. 219-221.
- [11] J. Ribéreau-Gayon, P. Ribéreau-Gayon, The anthocyanins and leucoanthocyanins of grapes and wines, *Am. J. Enol. Vitic.*, **1958**, 9, p. 1-9, www.ajevonline.org/content/9/1/1
- [12] www.inrae.fr/sites/default/files/pdf/science-et-elus-no1-vignes-resistantes.pdf
- [13] www.hg-geisenheim.de/en/research/departments/grapevine-breeding/departement-of-grapevine-breeding
- [14] www.julius-kuehn.de/en/zr
- [15] https://wbi.landwirtschaft-bw.de/pb/_Lde/Startseite/Fachinfo/Pilzweiderstandsfaehige+Keltertraubensorten
- [16] www.vitisphere.com/actualite-97664--les-cepages-blancs-resistants-au-mildiou-et-a-loidium-font-leur-trou.html#:~:text=Deux%20c%3%A9pages%20blancs%2C%20le%20flor%3%A9al,donnet%20des%20vins%20tr%3%A8s%20aromatiques
- [17] www.agroscope.admin.ch/agroscope/fr/home/themes/production-vegetale/viticulture/divico.html
- [18] www.vivirauscedo.com
- [19] www.pepinieres-mercier.com/scripts/files/6203deb7e60f16.37238948/presentation-programme-nathy.pdf
- [20] www.vignovin.com/actualites/actualites-viticulture/nathy-sauvignac-le-nouveau-plant-de-vigne-resistant-pour-vins-blanc-des-pepinieres-mercier-novatech; https://plantgrape.plantnet-project.org/media/content/Sauvignac_Fiche_Nathy_2020.pdf; www.sival-innovation.com/nathy-sauvignac

Olivier ZEKRI,
Responsable Recherche, Analyses, Sélection & Prémultiplication,
Mercier Novatech.

* olivier.zekri@mercier-groupe.com

de la vigne aux vins

Les (poly)phénols : de la vigne au vin

Résumé Cet article est un voyage au cœur de l'univers très coloré des (poly)phénols, les molécules les plus intéressantes du vin, avec comme guide les voies métaboliques sophistiquées empruntées par la vigne pour les créer (biogénèse) dans les conditions « normales » (saines) ou « dégradées » (moisissures...). Le voyage se poursuit par l'analyse et quelques interprétations de leur impact sur la qualité des vendanges (du raisin aux moûts) et s'achève avec celui sur le contenu des vins.

Mots-clés Aromagenèse, (poly)phénols, flavonoïdes, stilbénoides, tanins, vigne, raisin, cep, vin rouge, vin blanc.

Abstract Polyphenols: from vine to wine

This article is a journey to the heart of this very colorful universe of (poly)phenols, with as a guide the sophisticated metabolic pathways taken by the vine to create them (biogenesis), under "normal" (healthy) or "degraded" (mold, etc.) conditions. The journey continues with the analysis and some interpretations of their impact on the quality of the harvest (from grapes to must) and finally on the content of wines in (poly)phenols.

Keywords Aromagenesis, (poly)phenols, flavonoids, stilbenoids, tannins, vine, grape, stock, red wine, white wine.

Spécifiques du monde végétal, les (poly)phénols occupent une place importante dans la « chimie du vin », et bien que présents en quantité limitée (3 à 4,7 g/L dans les vins rouges, ~ dix fois moins dans les blancs), ces molécules complexes assurent la plupart des propriétés majeures, physico-chimiques (couleur, astringence...) et nutritionnelles (propriétés « santé ») du vin. Elles découlent de leurs structures phénoliques, c'est-à-dire aromatiques. La biogénèse sera utile pour une approche des structures des trois familles de (poly)phénols présents dans la vigne (bois et raisin), et donc dans le vin.

Les (poly)phénols : origine biogénétique, familles et structures

Le terme (poly)phénols désigne les « polyphénols vrais », qui doivent renfermer « plusieurs » (poly) noyaux aromatiques hydroxylés (« phénols ») [1], majoritaires dans le vin, aussi bien que les « phénols » (acides hydroxy-benzoïques ou -cinnamiques...) qui ne méritent pas ce titre puisqu'ils ne possèdent qu'un seul noyau phénolique et sont donc des phénols (figure 1).

Biogénèse des (poly)phénols végétaux

Les (poly)phénols sont ubiquitaires dans le monde végétal et les milliers de structures possibles, complexes, peuvent être regroupées en « familles » sur la base d'analogies structurales imposées par leur biogénèse, ce qui facilite grandement leur reconnaissance. On distingue en effet les polyacétates

des shikimates, et les flavonoïdes des stilbénoides (pour des métabolites ayant une origine mixte « polyacétates-shikimates »), en fonction du ou des précurseur(s) biogénétique(s) utilisé(s) par les plantes pour la biosynthèse *de novo* de leur noyau aromatique (aromagenèse). Les caractéristiques structurales de chacune sont des critères fiables pour leur classement.

Aromagenèse par la voie de l'acétate

Les six carbones du noyau phénolique de cette voie proviennent de trois molécules d'acide acétique. Le triacétyle **1** est cyclisé en une tricétone **2**, qui s'énolise spontanément en 1,3,5-tri-OH-benzène (AROM₁) ou phloroglucinol **3** (figure 2). Les métabolites issus de cette voie sont des polyacétates.

Très fréquents chez les plantes, les noyaux aromatiques portent tous la signature caractéristique de leur précurseur biogénétique, le tri-acétyle (3 x 2C) : leurs hydroxyles sont en position *méta*. Le phloroglucinol se retrouve tel quel, par exemple dans le cycle A de la plupart des flavonoïdes de la vigne.

Aromagenèse par la voie du shikimate

C'est la voie de biosynthèse de nombreux métabolites aromatiques primaires majeurs (aminoacides...), mais aussi de métabolites spécifiques comme les (poly)phénols. L'érythro-séphosphate **4** et le phosphoénolpyruvate **5** (PEP) sont les précurseurs de l'acide shikimique (shikimates) **6** (noyau à 6C, futur noyau aromatique), qui peut s'aromatiser directement (AROM₂₋₁) en acides hydroxybenzoïques **7** (C6 + C1), ou en

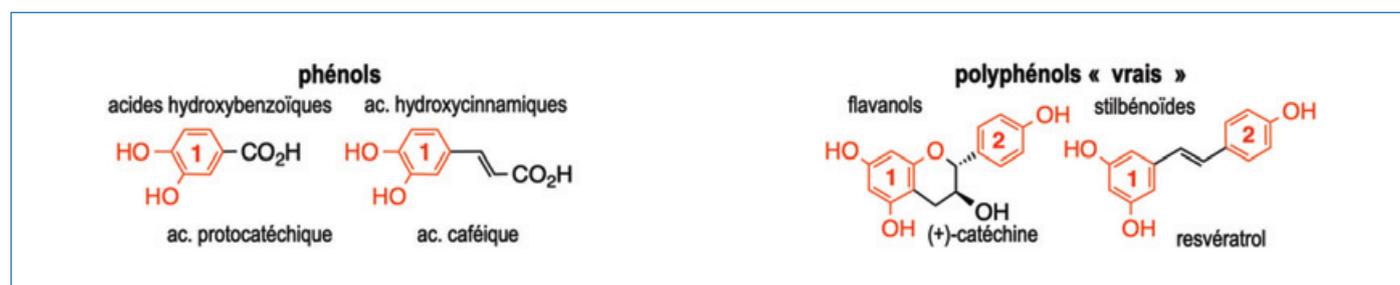


Figure 1 - Phénols à un seul noyau phénolique **1** (à 1, 2 ou plus OH), et « vrais » polyphénols, à deux noyaux **1** et **2**, au moins.

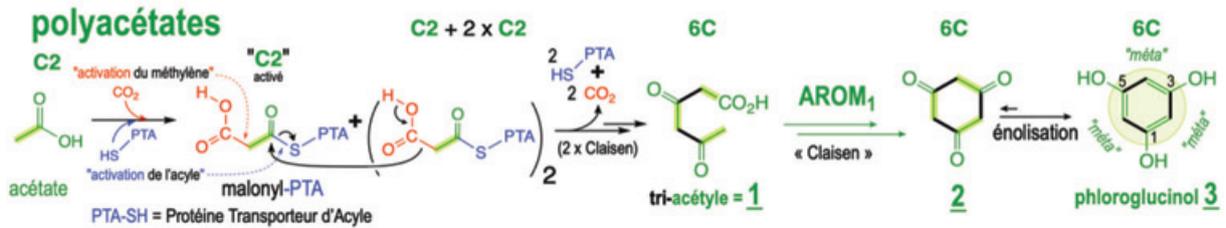


Figure 2 - Voie des acétates : les six carbones du noyau aromatique de cette voie proviennent de trois acides acétiques.

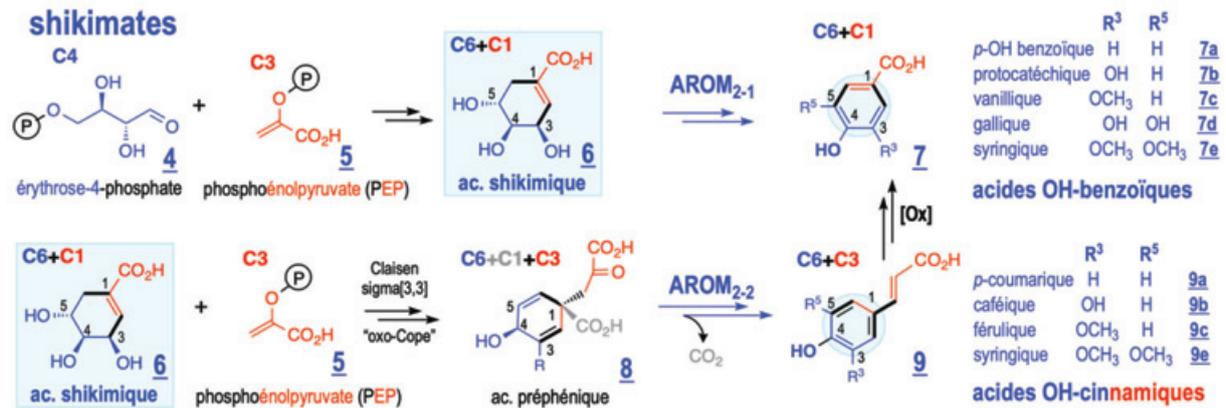


Figure 3 - Voie des shikimates.

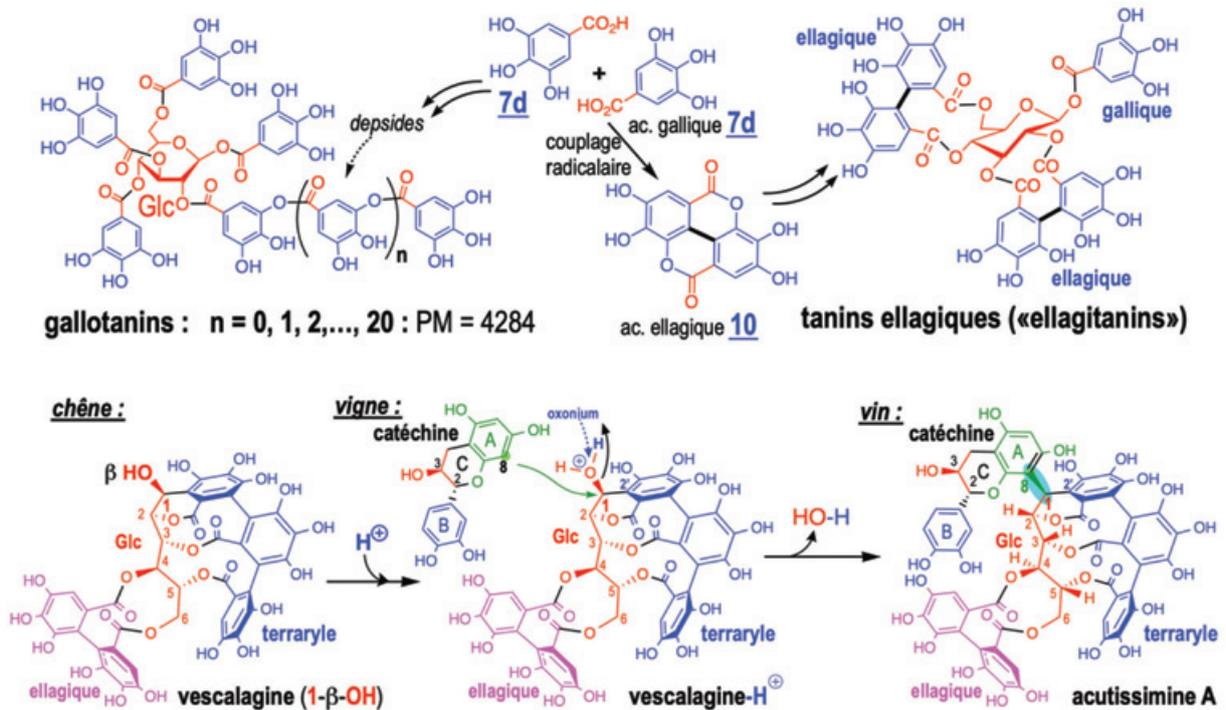


Figure 4 - Tanins gallique et ellagique : glucosylesters des acides gallique et ellagique et acutissimine A (du vin).

acides hydroxycinnamiques (AROM₂₋₂) **9** (C6 + C3), après addition d'un second PEP, et formation d'acide préphénique **8** (figure 3).

La caractéristique de cette voie est due là aussi aux précurseurs et, notamment, l'érythrose **4** : ses hydroxyles, « vicinaux » (sucre oblige), seront adjacents dans les shikimates, et donc en positions *ortho* (3,4,5-) dans les acides OH-benzoïques

ou -cinnamiques correspondants, et, par exemple, le cycle B des flavonoïdes de la vigne.

• Les tanins « galliques » et « ellagiques », des tanins œnologiques L'acide gallique **7d** et son dimère, l'acide ellagique **10**, sont caractéristiques des tanins du chêne (figure 4) : un sucre central (glucose) est estérifié par des acides galliques (gallotanins)

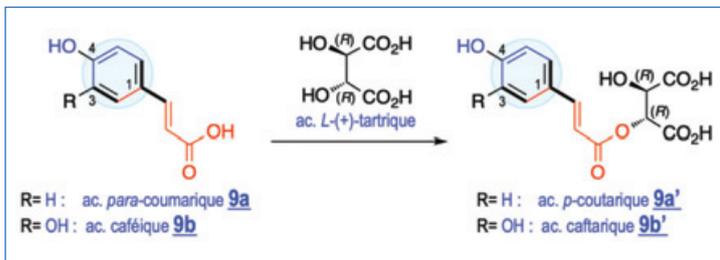


Figure 5 - L'importance des hydroxycinnamates **9**.

et/ou ellagiques (ellagitanins). Ces tanins « saponifiables » ne sont présents que dans un vin qui a été en contact avec eux (élevage en barrique, addition de copaux ou de tanins œnologiques de chêne). Cet enrichissement est davantage recherché pour lui apporter un goût boisé, des arômes de vanille... (la vanilline est de la famille!), que pour en augmenter les « propriétés santé », comme celles contre le cancer, découvertes pour l'acutissimine A [2] (figure 4). Elle se forme au cours du vieillissement du vin comme l'a montré Quideau [3] et peut contribuer, avec d'autres métabolites, aux phénomènes modifiant sa couleur, sa saveur...

• Les acides hydroxycinnamiques

Dans le raisin, les hydroxycinnamates **9** forment des esters de l'acide L-(+)-tartrique, présent en abondance : les acides coutarique **9a'** et caftarique **9b'** (figure 5), des constituants particulièrement oxydables du jus de raisin, qui peuvent être à l'origine, par exemple, du brunissement des moûts blancs, mais aussi participer aux phénomènes de vieillissement du vin.

• Les flavonoïdes et stilbénoloïdes, des (poly)phénols mixtes : un même intermédiaire biogénétique

De nombreuses plantes possèdent les enzymes pour former un intermédiaire pivot **IP** (figure 6), reliant la voie d'aromatisation des acétates à celle des shikimates, qui marque une évolution majeure dans la chimie des plantes, car il leur permet d'accéder à une plus grande variété encore de (poly)phénols, qui possèdent deux cycles phénoliques : **A** (voie des acétates) et **B** (voie des shikimates). On en distingue deux grandes catégories : les flavonoïdes à 15 atomes de carbone et les stilbénoloïdes à 14 atomes de carbone, entre lesquels une régulation très fine, d'une extrême importance, existe chez la vigne.

- Les flavonoïdes : la figure 7 présente de façon synoptique les cinq familles de flavonoïdes : les chalcones **12**, les flavanones **13**, les flavonoïdes **14**, les flavanols **15**, et les anthocyanes et anthocyanidols **16**. Flavanols et anthocyanes sont de loin les plus importantes pour la vigne, et donc pour le vin quantitativement (3,5 et jusqu'à 5g/L de vin rouge), mais aussi qualitativement : elles supportent une grande part des principales propriétés physico-chimiques/chimiques et organoleptiques qui font que le vin est vin (couleur, saveur, astringence, rondeur...), mais aussi nutritionnelles/santé du vin.

- Les flavanols : des tanins condensés, catéchiques ou procyanidoliques. Les tanins catéchiques sont des oligomères de flavanols **15**, les catéchine **15a** et épicatechine **15b**, reliées entre elles (« condensées ») par des liaisons interflavaniques (LIF) 4-6 ou 4-8, comme celles des dimères **B1** à **B8** (figure 7). À partir de trois résidus catéchiques, ces oligomères acquièrent des propriétés tanantes : c'est-à-dire l'aptitude à établir des interactions faibles, mais nombreuses et quasi instantanées, avec les protéines riches en prolines (PRP), notamment, comme c'est le cas des protéines salivaires qu'ils précipitent instantanément, et avec elles, le cortège de molécules d'eau de solvatation qui, habituellement, lubrifie la muqueuse, provoquant ainsi une sécheresse buccale (astringence). Cette sensation en bouche d'un vin dépend directement de la nature et de la quantité en ses tanins : elle peut être intense dans certains vins (rouges, bien sûr !), encore jeunes et issus de cépages connus pour leur richesse en flavanols, comme le Cabernet Sauvignon, le Malbec et surtout le Tannat. Le classement des meilleurs vins du monde, basé sur leurs propriétés cardiovasculaires, proposé par Corder [4], mesure leur capacité à inhiber la synthèse d'endothéline-1 par l'endothélium vasculaire (un facteur aggravant de l'hypertension) et accorde la palme aux vins du Grand Sud-Ouest de la France (Tursan, Madiran, Saint-Mont... où le Tannat règne en maître), devant ceux de la province de Nuoro en Sardaigne (deux régions viticoles choisies dans l'étude pour la longévité remarquable de leurs populations). Pour lui, ce résultat est clair : les cépages utilisés et les méthodes traditionnelles de vendange et d'élevage offrent des vins particulièrement riches en oligomères catéchiques. Ces tanins peuvent s'hydrolyser au cours du temps (comme c'est le cas dans la réaction accélérée de Bate-Smith), et participent ainsi aux évolutions des vins de garde, qui en sont riches.

- Les anthocyanes et anthocyanidols : littéralement, ce sont les colorants cyan des fleurs (du grec *anthos*). Les anthocyanes **16**

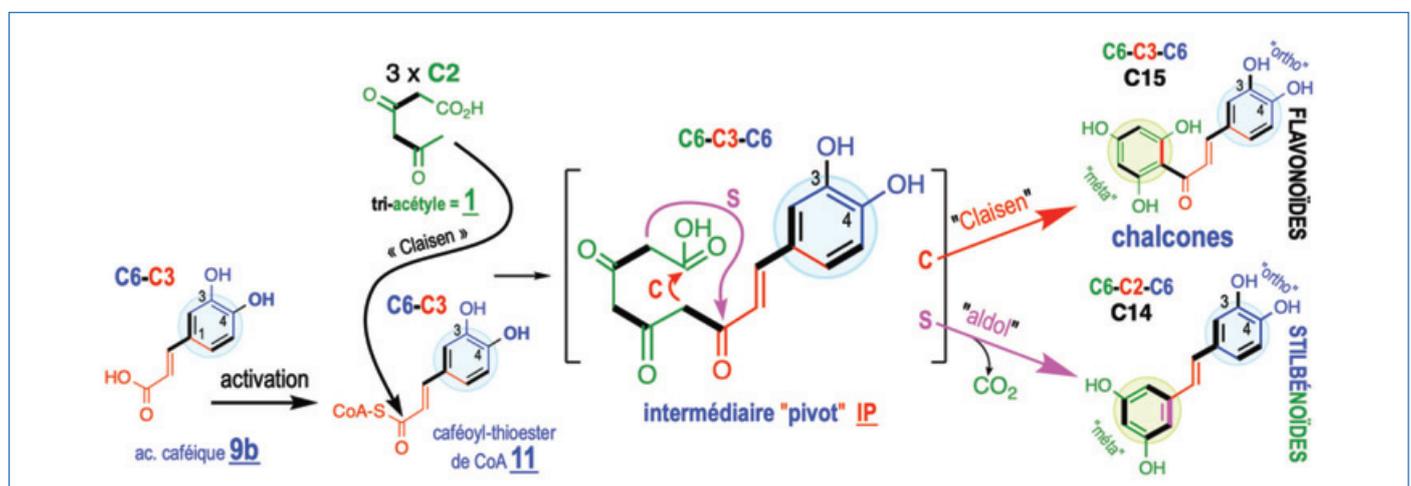


Figure 6 - Origine biogénétique commune des flavonoïdes en C6-C3-C6 et stilbénoloïdes en C6-C2-C6.

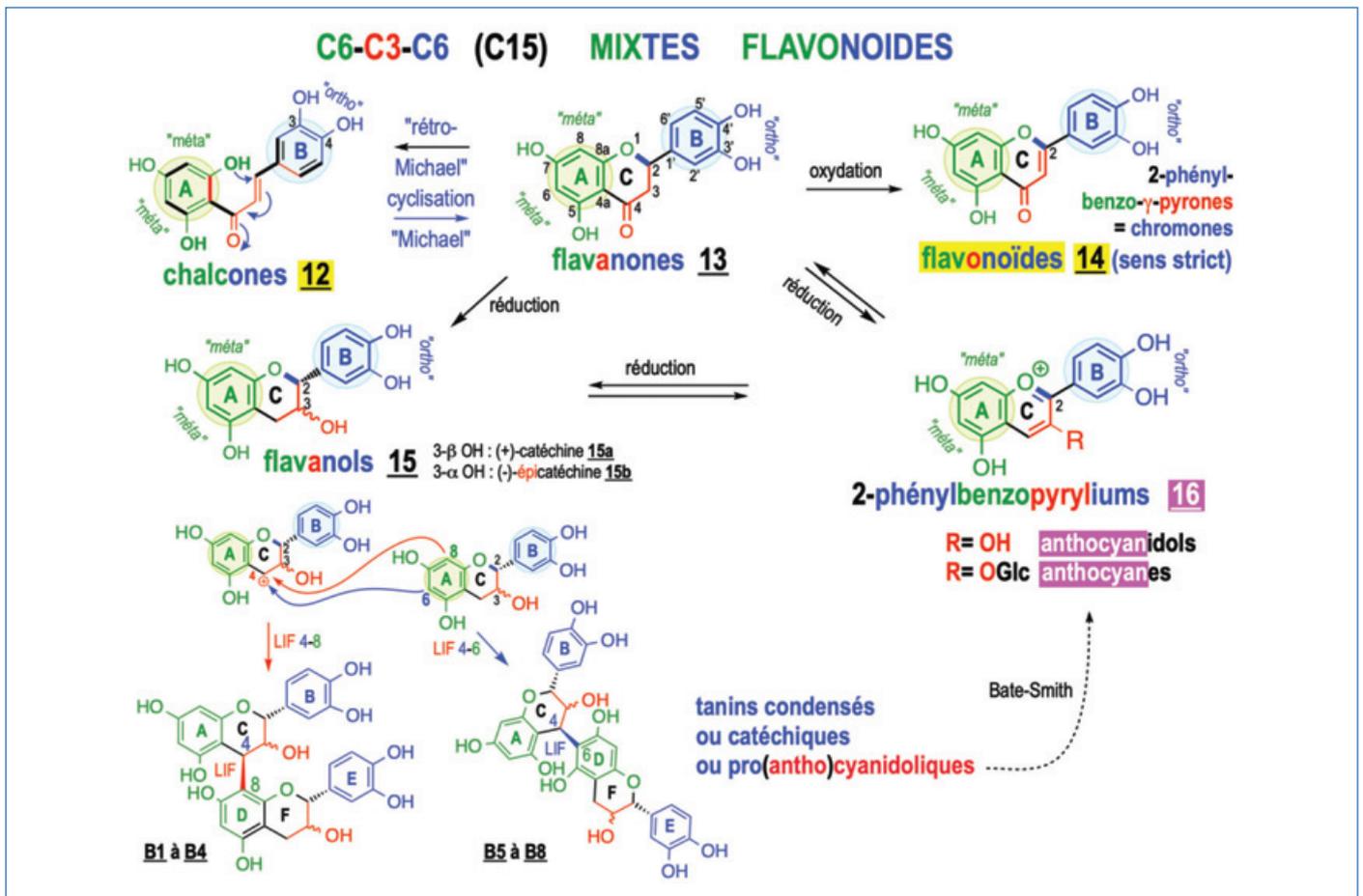


Figure 7 - Origine biogénétique des (poly)phénols de type flavonoïde (au sens large), en C6-C3-C6.

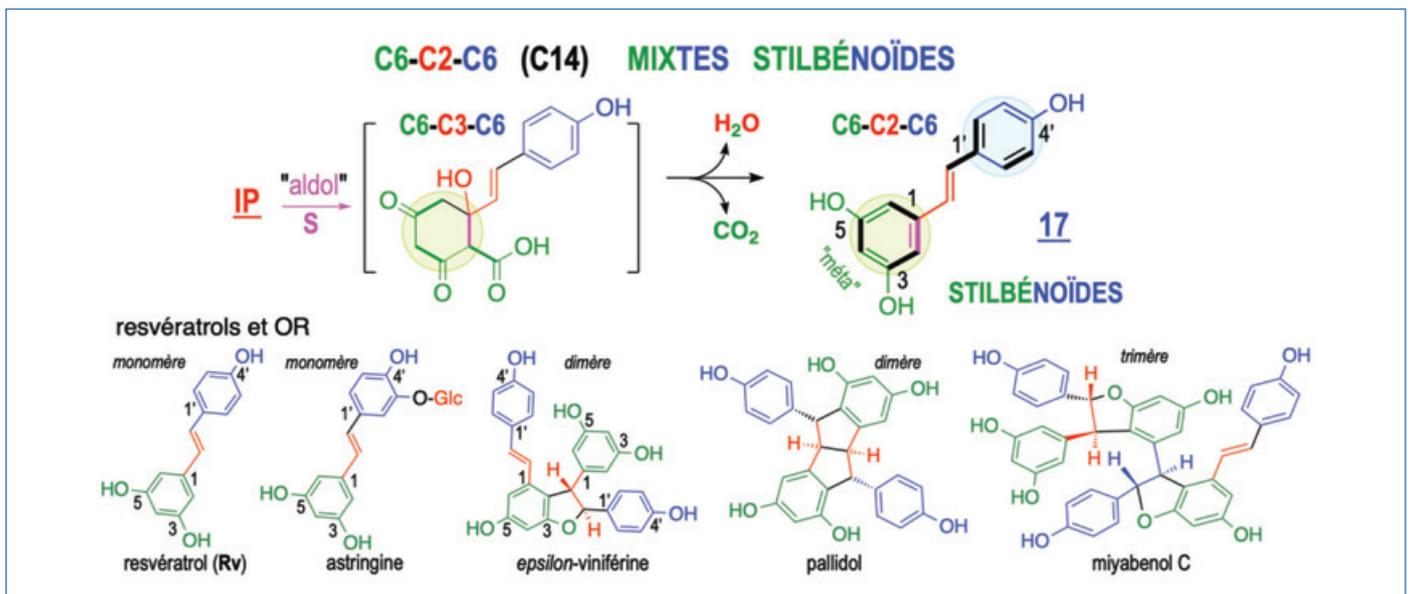


Figure 8 - Biogenèse des (poly)phénols de type « stilbène » en C6-C2-C6.

sont aussi les colorants des vins (figure 7). Situés essentiellement dans la pellicule des raisins noirs, tout l'art du maître de chai consistera à favoriser leur extraction par une macération prolongée du jus de raisin en fermentation avec les marcs pour les vins rouges, de la maîtriser à la minute près parfois pour les rosés, et d'éviter à tout prix ce contact pour les blancs (même à partir de Pinot noir, pour du Champagne blanc 1^{ère} cuvée, par exemple). Il y en a aussi dans les feuilles mais ils sont masqués par les chlorophylles (jusqu'à l'automne).

- Les stilbénoides : les stilbénoides **17** constituent, à côté des flavonoides, la deuxième grande famille de (poly)phénols issus de l'IP (voie mixte) par une réaction d'aldolisation (figure 8). Cette étape, réalisée par la stilbène-synthase, s'accompagne d'une décarboxylation et donne donc des (poly)phénols à 14 carbones, en C6-C2-C6. Ces (poly)phénols sont beaucoup moins abondants que les flavanols dans le vin, mais c'est la famille légendaire des resvératrols (*trans*-resvératrol) et des oligomères de Rv (l'OR de la vigne !).

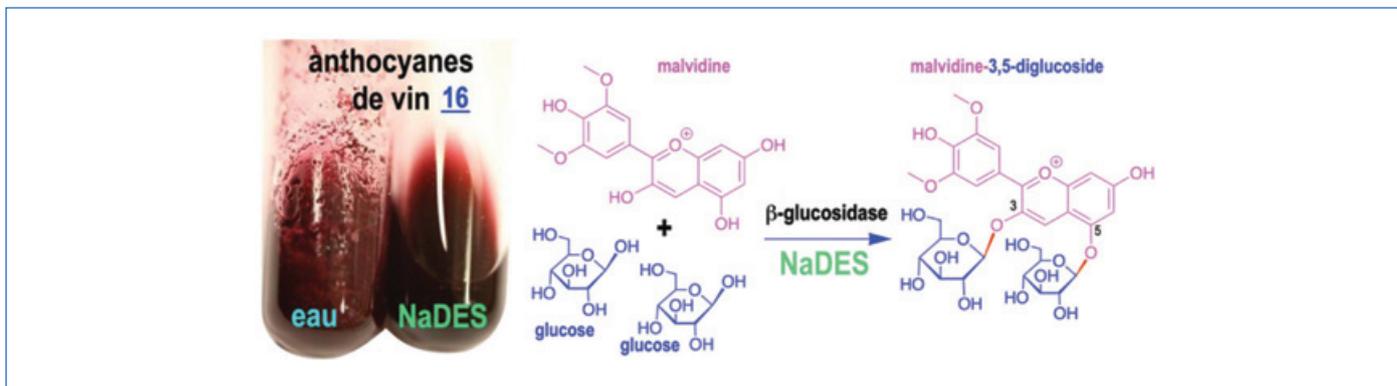


Figure 9 - Les anthocyanes du vin et l'enzyme du couplage ne sont solubles que dans des NaDES.

En résumé, nous venons de balayer les principales familles de (poly)phénols, en essayant de donner quelques-unes des clés efficaces de leur reconnaissance... Pour aller plus loin dans ce domaine très vaste, on peut partir d'une mise à jour récente [5] et consulter les articles cités.

La vigne et les (poly)phénols

La vigne est sans équivalent pour fabriquer les centaines (peut-être les milliers !) de molécules (poly)phénoliques dont elle a besoin pour assurer son métabolisme « de base ».

Comment la vigne fabrique-t-elle les trois principales familles de polyphénols ?

La vigne est une des rares plantes capables de produire une grande diversité, et en quantité aussi importante, de chacune des trois principales familles de (poly)phénols : les acides HO-cinnamiques, les flavonoïdes et les stilbénoides. Pour les deux premières, la question ne se pose pas, sauf peut-être à éclaircir celle de l'insolubilité des anthocyanes dans l'eau, mais l'idée selon laquelle les stilbénoides seraient des phytoalexines mérite d'être précisée.

Comment la vigne peut-elle synthétiser des flavonoïdes insolubles dans l'eau ?

Cette question est omniprésente en biologie, pour toutes les catégories de métabolites, car sans solubilité, pas de réaction chimique ! Verpoorte a apporté une réponse, éclatante de génie, à cette question, quand il a découvert les NaDES (« natural deep eutectic solvents ») en 2011 [6]. Non seulement des composés naturels, abondants, non toxiques (les sucres, les acides-alcools ou -aminés...), forment des eutectiques profonds quand ils sont en mélanges stœchiométriques idoines et restent donc liquides à des températures extrêmes (-80 °C, soit plus de 280 °C de diminution du point de fusion du saccharose s'il est en présence de fructose et de glucose équimolaires), mais encore, ces eutectiques ont des propriétés solvantes exceptionnelles qui ont permis à l'équipe de Leyden de les proposer comme le « lien manquant entre l'eau et les membranes pour expliquer le métabolisme et la physiologie cellulaire ». La vigne profite, à plusieurs niveaux, de l'intérêt de cette découverte. Elle doit, par exemple, son « débouillage », chaque printemps, à la formation de NaDES, et réalise ce tour de force de boucher (chaque hiver, pour se protéger du gel, en excluant l'eau, mélange solide) et redéboucher ses vaisseaux, pour les réutiliser chaque année (mélange liquide) ! Ce sont aussi les NaDES qui permettent de comprendre aussi comment la vigne peut réaliser la synthèse des anthocyanes **16** (glucosylation

des anthocyanidols), notamment, alors qu'ils ne sont pas « très » solubles dans l'eau (figure 9), ni même d'ailleurs la bêta-glucosidase qui doit réaliser le couplage. C'est quand même plus facile de « glucosyler » les OH de la malvidine quand le solvant comporte un tiers de glucose ! Enfin, nous avons de sérieuses raisons de penser que l'existence de NaDES, ayant comme composants des acides alcools (acides tartrique, malique, lactique...) et des minéraux (le vin peut renfermer jusqu'à 1g/L de K⁺ !), fasse toute la différence entre les variétés teinturières (au jus d'emblée coloré = anthocyanes solubles), et toutes les autres, au jus incolore !

Les stilbénoides de la vigne : des phytoalexines ?

L'idée très répandue selon laquelle les stilbénoides seraient des « phytoalexines » (produits synthétisés par la plante en réponse à une agression) mérite d'être précisée. Comme les cinnamates et les flavonoïdes, les resvératrols et leurs oligomères OR sont d'abord des constituants normaux (physiologiques), mais du bois de la vigne, et ne sont des « phytoalexines » que dans les feuilles et les fruits. Dans nos mains, l'extraction des OR de sarments de vigne, choisis les plus sains possible (donc, il ne peut s'agir de phytoalexines !) se fait avec des rendements de 1,5 % environ, soit 15 g/kg de matière sèche [7]. Le procédé a été industrialisé depuis et les rendements sur plusieurs milliers de tonnes ne laissent aucun doute : les OR, incluant ~20 % de Rv lui-même, sont bien présents en quantité dans les sarments. D'autres équipes ont montré clairement que ce sont des métabolites constitutifs du bois de la vigne (cep, sarments et rafles) [8-9], et à des teneurs au-delà du symbolique (700 µg/g de bois frais).

Un même « précurseur » IP, pour couvrir des besoins spécifiques aux tissus

Dans quel but la vigne fabrique-t-elle les trois catégories de (poly)phénols (acides HO-cinnamiques, flavonoïdes et stilbénoides) ? Une évidence pour les acides HO-cinnamiques ou -benzoïques : aucune plante ne saurait exister sur Terre si elle ne fabriquait ces métabolites ; ils sont vitaux ! Les flavonoïdes et les stilbénoides sont en fait au moins aussi essentiels que les métabolites primaires. La vigne consacre une part importante de son métabolisme à accumuler dans son bois (rafles, sarments) 1,5 % (du poids sec) de dérivés stilbéniques. C'est donc dans ce bois, qui reste vivant jusqu'au cœur (ici, pas de bois mort ni d'aubier) et pendant des décennies (plus d'un siècle, facilement), que la vigne accumule ses stilbènes, afin d'assurer la longévité de son cep ! N'oublions pas que le resvératrol a été décrit comme la petite molécule la plus puissante (parmi 17 000 testées !) à activer les sirtuines [10], les fameuses

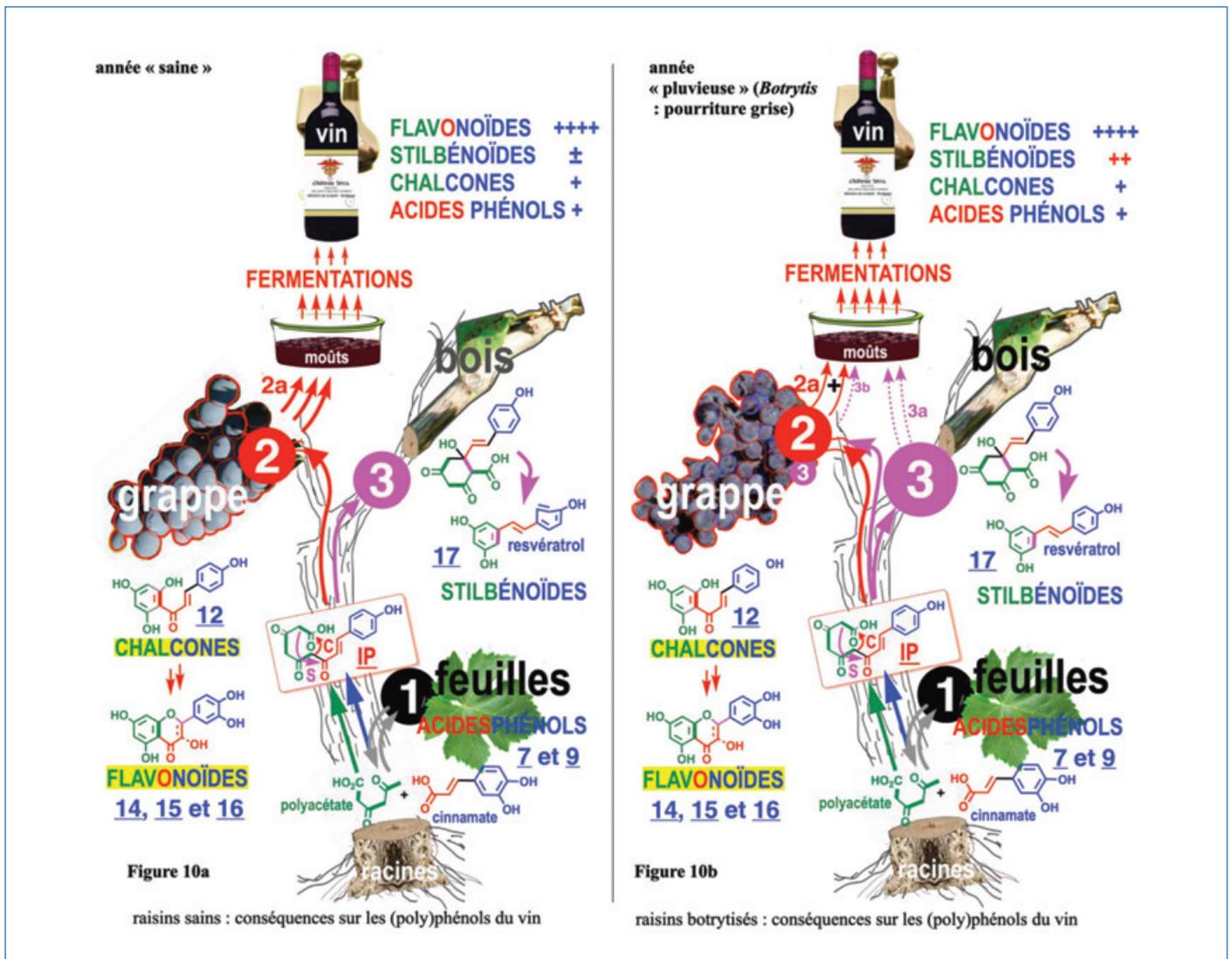


Figure 10 - Biogenèse des trois familles de polyphénols de la vigne à partir d'un précurseur unique (IP), via l'une des « voies » (1 à 3), selon l'organe et les conditions climatiques.

protéines de longévité découvertes en 2003 par Sinclair pour prolonger l'espérance de vie des levures. Il s'avère qu'elles sont universellement présentes, dans tous les êtres vivants, y compris bien sûr chez les plantes. Donc, comment le « bois de la vigne » (cep-sarments-rafles) ne serait-il pas le mieux protégé sur le long terme, quand il renferme jusqu'à 15 g de stilbénoides OR/kg de sarments ?

Pourquoi la vigne stockerait-elle, mais dans ses fruits cette fois (les grains de raisin : pellicule, pulpe et pépins), et en quantité comparable (15 g/kg), des flavonoïdes (au sens large), la catégorie de (poly)phénols la plus « antioxydante » qui soit, sinon pour les protéger intensément, mais sur une courte période (une année au maximum), puisque la semence (les pépins), promesse de pérennité de la vigne, est renouvelée chaque année ?

Les feuilles, enfin, partie de la vigne la plus exposée au soleil, sont aussi les plus riches en acides OH-phénols et leurs esters. Des (poly)phénols justement très efficaces pour assurer la protection des feuilles contre les rayons UV, qui sont abondamment utilisés comme conservateurs et filtres solaires (dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique, par exemple).

De manière étonnante, la vigne est donc une plante la mieux protégée par la catégorie de (poly)phénols la plus performante à assurer la meilleure protection dans chacune de ses parties !

Comment la vigne s'y prend-elle pour fabriquer les bons (poly)phénols pour chaque tissu ?

Comment la vigne peut-elle fabriquer sélectivement les trois catégories de (poly)phénols (acides HO-cinnamiques, flavonoïdes et stilbénoides) ? Elle utilise l'intermédiaire unique IP assez universel, mais la vigne se singularise par la versatilité du système exceptionnel mis en place dans les conditions optimales (vendange saine ou année pluvieuse (pourriture grise...), figure 10).

La vigne doit donc produire les stilbénoides dans son bois, et dans ses fruits (grains de raisin, qui vont donner le vin) les flavonoïdes. Tout se passe comme si elle disposait de deux « vannes 3-voies » en série, alimentées par une « ligne principale » (racines) riche en précurseur (sève élaborée), dont elle utiliserait la sortie idoine, selon l'organe. Comme symbolisé sur la figure 10, le fonctionnement se fait à « trois voies » : le plus probable étant que la sélectivité nécessaire est assurée par l'expression des enzymes : resvératrol-synthase 3 pour le bois et CHS 2 pour le fruit, en année saine (figure 10a). Dans les cas d'une attaque par des pathogènes (*Botrytis*, *Plasmodium*...) en année pluvieuse, une induction des phytoalexines renforcera l'expression de la resvératrol-synthase, et donc une production de stilbénoides accrue dans les sarments 3 et nouvelle 3 dans les fruits (figure 10b) : voilà comment le resvératrol devient une « phytoalexine » du raisin, qu'on retrouvera

dans le vin. Le fonctionnement unique de ces voies métaboliques d'aromagenèse chez la vigne aura un impact sur le contenu (poly)phénolique du raisin, et donc sur les propriétés physico-chimiques, physiologiques et biologiques du vin. Il apparaît ainsi clairement qu'un vin, élaboré à partir du jus des baies alimentées par la voie ② (conditions sanitaires idéales, *figure 10a*), renfermera très majoritairement des flavonoïdes. Il sera donc difficile d'y trouver, naturellement, du resvératrol.

L'avantage que cette « régulation » très fine de production des (poly)phénols donne à la vigne est que, selon le besoin et en fonction des conditions climatiques (réchauffement, pluviosité...), elle peut dévier l'une de ces voies (induction enzymatique dépendante des tissus) au profit de l'autre, sans compromettre ses chances de survie. Quelle plante fabuleuse !

Les (poly)phénols : des goûts au vin

Impossible de parler des (poly)phénols du vin sans parler d'abord des deux substances majoritaires qui jouent le rôle de solvants : l'eau et l'alcool.

L'eau

Bien sûr, l'élément essentiel quantitativement de cette boisson est l'eau (ca 85%), autant que qualitativement : le vin est une boisson alcoolisée dont l'eau est celle du fruit duquel il provient, et elle est filtrée par les racines ; on peut dire ainsi que c'est une eau « pure » !

L'alcool

L'alcool, deuxième en importance, donne au vin toutes ses autres qualités « santé », après celles de l'eau pure. Sans lui, impossible de parler de (poly)phénols dans le vin : ils ne sont pas solubles dans le seul jus (sucré) de raisin, qui est d'ailleurs incolore, même celui de raisins noirs, et ne le deviennent qu'après formation d'alcool par fermentation alcoolique (18 g de sucre du jus de raisin donnent 1° alcoolique, soit 10 g/L). Mais le vin n'est pas de l'alcool : il en contient, et cette part le valorise.

Curieusement, on peut se demander si la Nature ne serait pas complice des vigneron, car l'expérience nous a montré que le mélange hydroalcoolique idéal pour extraire les (poly)phénols des marcs de raisin était celui du vin (12-15° : 120-150 g/L). Le jus des variétés « teinturières » (c'est-à-dire utilisées pour le jus de raisin) est coloré directement, dès le pressurage, sans alcool. Cela veut dire, soit que leurs anthocyanes pour être solubles dans le jus sucré ont une structure différente des variétés non teinturières (ce qui n'est pas documenté), soit (l'explication la plus probable) c'est la formation dans ce jus de composants naturels organiques (acide tartrique, acide malique, tanins, sucres, anthocyanes, etc., et/ou de minéraux (la concentration en K⁺ dans le vin rouge peut atteindre 1 g/L), en quantités stœchiométriques idéales pour former des solvants eutectiques.

Les (poly)phénols

La composition en (poly)phénols du vin dépend de toutes les potentialités emmagasinées dans la grappe jusqu'à la vendange et de son état sanitaire à la vendange. Produit issu de la fermentation des goûts/jus sucrés de raisin, sa composition dépend directement de la qualité du jus de raisin, mais également de la capacité des (poly)phénols à être extraits pendant l'étape de fermentation/macération. Plusieurs points

sont à considérer concernant la composition du vin en (poly)phénols :

- Les (poly)phénols ne sont pas solubles dans l'eau seule : on peut très bien « vinifier en blanc » avec des raisins noirs (cas du Pinot Noir en Champagne). Dans ce cas, les seuls (poly)phénols du vin blanc sont ceux qui sont solubles dans le jus au moment du pressurage (il est coloré en jaune par la présence des quinones, des flavonoïdes (*sensu lato*), des chalcones). Sa richesse en resvératrol est très faible.

- Les (poly)phénols ne sont solubles que dans un mélange d'eau + alcool (issu de la fermentation, la part qui valorise le vin). La solubilité est optimale pour une teneur d'environ 12-15 % (une question : les levures seraient-elles complices ?).

- Quid de l'impact du changement climatique sur le devenir du vin ? En fait, si la vigne survit au réchauffement, les teneurs en sucres vont augmenter, mais la teneur en alcool ne dépassera guère les 14,5-15° car les levures meurent au-delà et la fermentation s'arrête. L'excès de sucre va alors apparaître : c'est en concentrant les goûts (> 265 g de saccharose/L = vins jaunes, vins de paille, vins de Sauternes par la pourriture noble due au Ciron...) qu'on obtient naturellement les « liquoreux ». Leurs belles couleurs jaunes traduisent une teneur en polyphénols accrue (quinones des acides OH-cinnamiques et leurs dérivés...).

- Quand la vinification a lieu en présence des marcs (macération), alors le mélange eau + alcool qui apparaît solubilise les procyanidines (tanins catéchiques et du chêne, selon le cas). Elles sont majoritairement concentrées à la surface des pépins (protection maximale), et dans le cas de raisins noirs, l'extraction des anthocyanes des pellicules conduit à un vin coloré (c'est la vinification en rouge). C'est dans ce cas que les teneurs maximales en tanins sont obtenues (certains grands vins méritent plus de 40 jours de macération). Le record a été pour un vin de Graves Pessac-Léognan, avec 4,7 g/bouteille. Autant dire que la langue était scotchée à la moindre goutte... mais un grand vin de garde !

Le resvératrol

Le resvératrol (Rv) dans un vin (toujours limité à 5-7 mg/L pour le vin rouge) provient de son extraction à partir des rafles, dans lesquelles il est le principal composant polyphénolique « naturel ». Elles sont placées à fermenter avec les autres marcs (pulpe, pépins, pellicules), car les vins rouges, qui ont un temps de macération long, sont systématiquement plus riches en Rv que les vins blancs qui n'en contiennent pratiquement pas (et ce pour des qualités de vendanges identiques), mais aussi parce que les vins rouges des régions qui n'exigent pas l'éraflage renferment à peu près tous les ans les mêmes quantités de Rv, quelle que soit la qualité des vendanges (saines ou pas).

Ainsi, il ne suffit pas d'affirmer que « le Rv est une phytoalexine polyphénolique présente dans les baies de raisin... », pour que, *de facto*, celui présent dans les vins rouges en tire son origine, et en tout cas surtout pas qu'il est le « principal polyphénol ».

La présence de stilbénoides dans le jus et, par conséquent dans le vin, a un lien étroit avec l'état sanitaire du raisin au moment du pressurage : plus il est sain, moins il y en a. D'ailleurs, en région bordelaise (où l'AOC exige l'éraflage), on redoute les « goûts herbacés » (sans doute signature d'une mauvaise qualité de vendanges ?), qui sont assez spécifiquement reliés aux stilbénoides.

Pour les vins blancs, le jus sucré est écarté des marcs, juste après pressurage. Il ne peut donc y avoir extraction du « Rv »,

présent dans les rafles ou dans les baies, par le jus en fermentation. Les teneurs des vins blancs en Rv reflètent celles initialement présentes dans le jus, vraiment très faibles, si on considère sa très faible solubilité dans l'eau.

La chimie du vin n'a pas fini de nous étonner

Après avoir présenté la structure, les propriétés physico-chimiques et organoleptiques des (poly)phénols de la vigne, les voies métaboliques exceptionnelles empruntées par la vigne pour créer ces molécules aromatiques, et l'impact de la qualité des vendanges sur le contenu des vins en (poly)phénols, deux découvertes méritent d'être soulignées, car elles devraient avoir des prolongements intéressants :

- Les NaDES : une meilleure connaissance de ces solvants physiologiques exceptionnels, comblant les lacunes de notre connaissance d'un bon nombre de réactions biologiques/enzymatiques, apporterait sans aucun doute au domaine de la viticulture comme de l'œnologie. Probablement faudra-t-il, dans les prochaines années, reconsidérer bon nombre de conclusions sur les teneurs des vins en (poly)phénols en fonction des progrès réalisés sur la connaissance des NaDES dans les moûts, en considérant par exemple l'alcool, les tartrates mixtes des divers minéraux, comme des « composants » de ces eutectiques...

- Les sirtuines (« silencing information regulators ») : ces protéines nucléaires et cytoplasmiques (au nombre de sept chez l'homme) jouent un rôle essentiel dans le contrôle de l'énergie, de la respiration et donc, du stress oxydant, tous ces facteurs étant étroitement liés au débat sur « vin et santé »,

dans lequel le chimiste peut apporter une contribution majeure...

[1] S. Quideau, Why bother with polyphenols?, **2008**, www.groupepolyphenols.com/the-society/why-bother-with-polyphenols

[2] Y. Kashiwada *et al.*, Tannins as potent inhibitors of DNA topoisomerase II in vitro, *J. Pharm Sci.*, **1993**, 82(5), p. 487-492.

[3] S. Quideau *et al.*, DNA topoisomerase inhibitor acutissimin A and other flavanellagitanins in red wine, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2003**, 42(48), p. 6012-14.

[4] R. Corder *et al.*, Oenology: red wine procyanidins and vascular health, *Nature*, **2006**, 444(7119), 566.

[5] J. Vercauteren, Vin et ses constituants « santé » : où en est-on, en 2019 ?, in *Vin et santé : qu'en pensent les médecins ?*, F. Agricole (ed.), Éditions France agricole, **2019**, p. 71-92.

[6] Y.H. Choi, J. van Spronsen, R. Verpoorte *et al.*, Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology?, *Plant Physiology*, **2011**, 156(4), p. 1701-05.

[7] J.-C. Delaunay, C. Castagnino, C. Chèze, J. Vercauteren, Preparative isolation of polyphenolic compounds from *Vitis vinifera* by centrifugal partition chromatography, *J. Chromatogr. A*, **2002**, 964(1-2), p. 123-128.

[8] P. Langcake, R.J. Pryce, The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury, *Physiol. Plant Pathol.*, **1976**, 9(1), p. 77-86.

[9] L. Bavaresco, C. Fregoni, E. Cantu, M. Trevisan, Stilbene compounds: from the grapevine to wine, *Drug Exp. Clin. Res.*, **1999**, 25(2-3), p. 57-63.

[10] K.T. Howitz *et al.*, Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan, *Nature*, **2003**, 425(6954), p. 191-196.

Joseph VERCAUTEREN,
Professeur de pharmacognosie (retraité), Université de Montpellier.

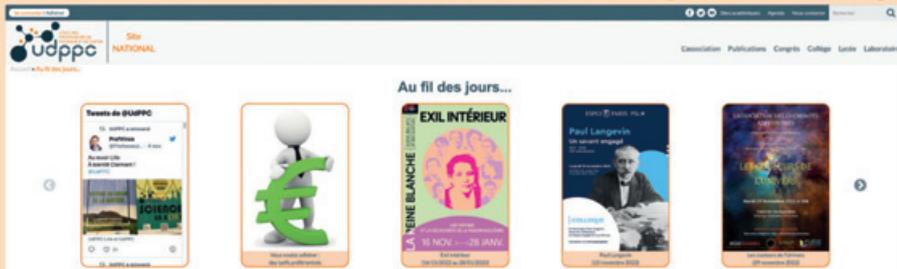
* jvercauteren@wanadoo.fr



L'Union des professeurs de physique et de chimie

Vous présente

son nouveau site : <http://www.udppc.asso.fr>



L'association	Espaces collège et lycée
L'UdPPC ?, Tarifs, Enquêtes,	Actualités, Les journées..., Ressources
Charte graphique, Olympiades,	Espace labo
Partenaires, Positions, Nous soutenons	Actualités, Ressources
Publications	Divers
Le Bup, Nous avons lu,	Agenda, congrès, réseaux sociaux,
L'arpenteur du web, Appel aux auteurs,	Sites académiques
Parus au BO, Ressources	

mais l'UdPPC, c'est aussi...

...la publication numérique mensuelle avec impression papier trimestrielle



...la consultation du Bup en ligne par articles et par numéro avec BupDoc

Du 1^{er} janvier au 31 décembre 2023 :

- ◆ Pour tous : 1907 → 2018
- ◆ Pour les abonnés : 2019 → 2023



...un congrès organisé chaque année par une académie différente



Siège social et courrier : 42 rue Saint-Jacques - 75005 PARIS
Tél. : 01 40 46 83 80 - secretariat.national@udppc.asso.fr



Les pigments des vins rosés

Résumé La couleur est un élément clé de la qualité des vins rosés. Elle couvre une large palette, liée à la présence d'anthocyanes qui sont les pigments rouges du raisin, ainsi qu'à celle de nombreux produits résultant des réactions des anthocyanes mais aussi d'autres composés phénoliques au cours de la vinification. Les avancées récentes sur la composition des vins rosés et la structure des pigments à l'origine de leur diversité de couleur sont présentées dans cet article.

Mots-clés Vin rosé, couleur, pigments, polyphénols, anthocyanes, métabolomique, spectrométrie de masse, chimiométrie.

Abstract **Rosé wine pigments**
Color is a key element in the marketing of rosé wines. It is extremely diverse, due to the presence of anthocyanins, the red grape pigments, and of numerous derivatives formed from them and from other compounds during wine-making. Recent advances on the phenolic composition of rosés wines and on the drivers of their color diversity are presented in this article.

Keywords Rosé wine, color, pigments, polyphenols, anthocyanins, metabolomics, mass spectrometry, chemometrics.

La couleur est un élément essentiel dans la qualité des vins rosés, immédiatement perçue par le consommateur, grâce aux bouteilles non teintées dans lesquelles ils sont généralement commercialisés. Cette couleur couvre une large palette, depuis des teintes très pâles de type « sable » ou « nacre » jusqu'à des « grenat » intenses, en passant par des nuances orange « abricot » ou « melon » ou rose « framboise », décrites par le nuancier développé par le Centre du Rosé (figure 1).

Ces couleurs sont liées à la présence de divers pigments, extraits du raisin ou formés par réaction des constituants du raisin au cours des opérations de vinification, appartenant, pour la plupart, à la famille des polyphénols.

Les composés phénoliques du raisin

Les composés phénoliques du raisin appartiennent à différentes classes moléculaires, les trois principales (détaillées



Figure 1 - Le nuancier, présenté sous la forme d'un coffret pédagogique, est un référentiel qui permet de qualifier précisément la couleur d'un vin rosé. Il comporte treize références qui ont été contre-typées à partir des couleurs les plus représentatives du monde Rosé (de gauche à droite) : grenat, cerise, groseille, corail, mangue, abricot, saumon, pêche, framboise, pomelo, litchi, nacre, sable.

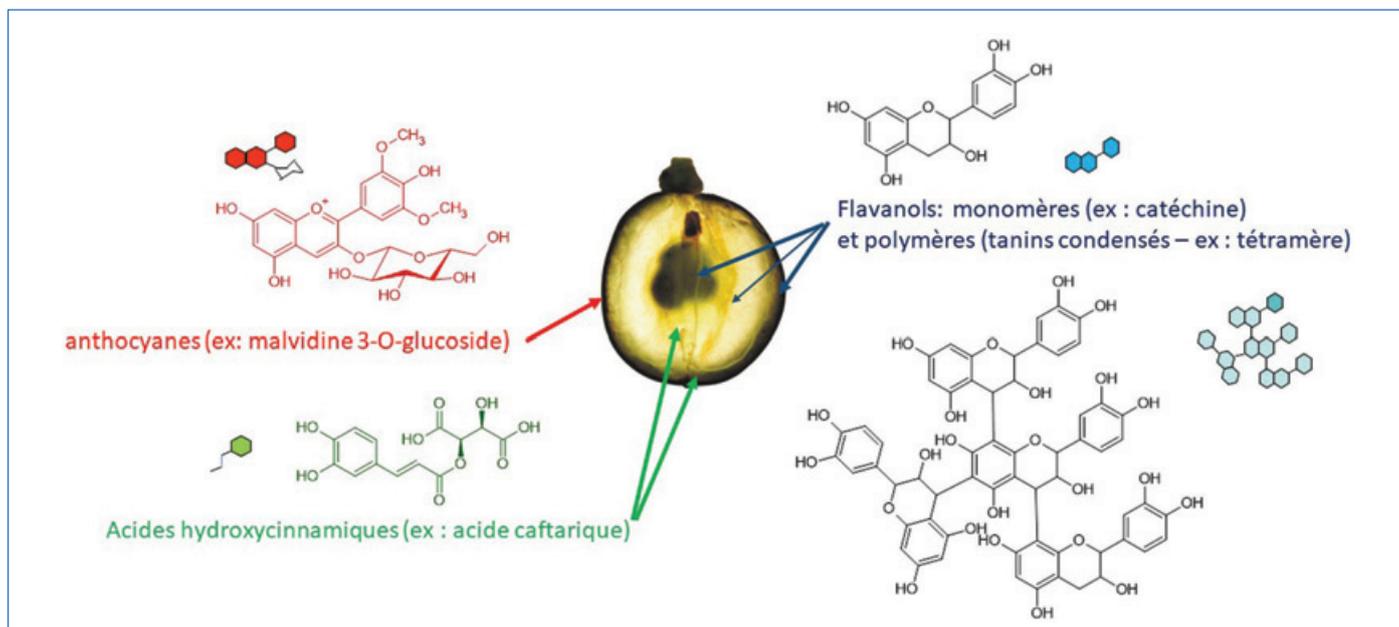


Figure 2 - Les trois principales classes de composés phénoliques du raisin et leur localisation dans la baie.

ci-après) étant les anthocyanes, les flavanols et les acides hydroxycinnamiques (figure 2).

Les pigments rouges de la baie de raisin sont des anthocyanes, famille particulière de polyphénols classée dans les flavonoïdes. Cette famille comprend une grande diversité de structures, en raison de la présence de différentes substitutions (hydroxyles, méthoxyles, glucosides, acylations du glucose). Elles sont représentées classiquement sous la forme de leur cation flavylium, sous laquelle elles sont détectées dans les conditions acides utilisées pour leur analyse. Cependant, cette forme rouge ne prédomine qu'en milieu très acide et se trouve en équilibre avec d'autres formes, colorées ou non, dans les solutions faiblement acides telles que le vin (pH compris entre 3 et 4). Ainsi, lorsque le pH augmente, le cation flavylium subit une déprotonation conduisant à une base quinonique de couleur bleue ou une réaction d'hydratation associée à une déprotonation générant une forme hémiacétale incolore puis, par ouverture du cycle et tautomérisation, des formes chalcones légèrement jaunes [1-2]. Du fait des pK de ces différentes réactions (4,6 pour la première et 2,6 pour la seconde, dans le cas de la malvidine 3-glucoside, anthocyane majeure du raisin), les formes majoritaires au pH du vin sont les formes hydratées incolores ou peu colorées, sauf si l'équilibre d'hydratation est déplacé par des phénomènes d'interaction (auto-association ou copigmentation) stabilisant la forme cation flavylium. Les anthocyanes réagissent également avec l'ion bisulfite, utilisé en vinification ou produit par les levures, pour donner un adduit incolore, réversible en milieu acide [3]. Les figures 3 et 4 présentent respectivement les principales formes de la malvidine 3-glucoside rencontrées dans les vins et l'impact du pH sur la couleur des solutions de ce pigment. Les flavanols sont présents sous forme de monomères mais aussi d'oligomères et de polymères, classiquement désignés par le terme de « tanins condensés » qui fait référence à leur capacité à précipiter les protéines. Cette propriété, mise à profit historiquement pour le tannage des cuirs, est à l'origine de la sensation d'astringence induite par la précipitation des protéines salivaires par les tanins. Ces molécules sont les principaux composés phénoliques du raisin, très abondants dans les pellicules et les pépins et présents en faible quantité

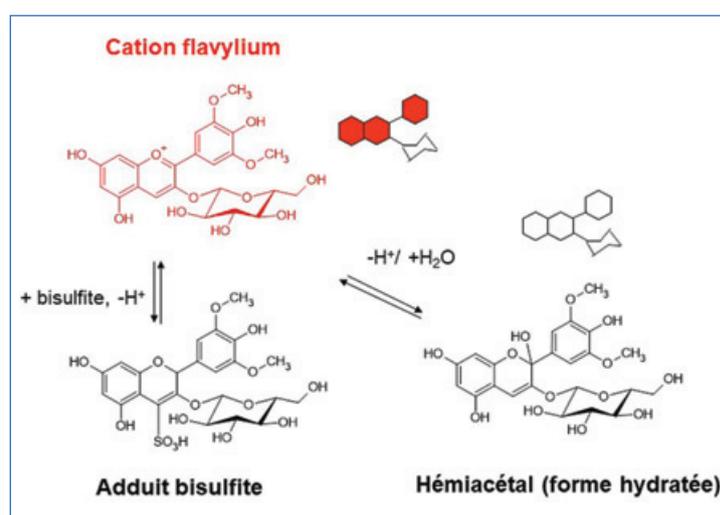


Figure 3 - Principales formes de la malvidine 3-glucoside dans les vins.

dans la pulpe et par conséquent dans les vins rosés, obtenus sans macération ou avec des macérations courtes.

Les acides hydroxycinnamiques, dont les principaux représentants dans le raisin sont les acides caféoyltartrique (caftarique, figure 2) et coumaroyltartrique (coutarique), sont présents en concentration importante dans les pulpes et dans les pellicules.

Extraction des composés phénoliques au cours de la vinification

Les pigments anthocyaniques sont localisés dans la pellicule (ou peau) du raisin et absents dans la pulpe, excepté dans quelques rares cépages, dits teinturiers, dont les pulpes sont colorées. Par conséquent, leur extraction nécessite une phase de contact entre les pellicules et le jus ou le moût en fermentation, et il est possible d'obtenir un vin blanc à partir d'un cépage noir, en évitant toute macération avant le pressurage. Les vins rosés ne peuvent être obtenus par assemblage de blancs et de rouges, cette pratique n'étant pas autorisée en France sauf quand cela est précisé dans le cahier des

à partir des radicaux poly, plusieurs, et phénol) jusqu'à des polymères très complexes, constitue un véritable défi pour l'analyste.

Les techniques d'analyse classiques reposent sur une séparation par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrophotométrie UV-visible, ces molécules présentant des spectres UV-visible caractéristiques de chaque famille, ou à la spectrométrie de masse qui apporte des informations sur la masse moléculaire et, grâce aux schémas de fragmentation, sur les motifs structuraux présents dans chaque composé. Plus récemment, des approches dites de métabolomique ont été développées pour caractériser la composition de mélanges très complexes, tels que les échantillons biologiques. Ces approches consistent à analyser l'ensemble des composés de faible masse moléculaire présents (métabolomique non ciblée) ou à quantifier des groupes de composés préalablement définis (métabolomique ciblée). Elles mettent en œuvre l'acquisition d'empreintes métaboliques caractéristiques de chaque échantillon et des traitements de ces données par des analyses chimiométriques pour en extraire des informations permettant de regrouper ou de discriminer les échantillons et de relier leur composition à certaines caractéristiques, telles que la couleur par exemple.

Ainsi, de très nombreux travaux utilisent la spectrométrie de masse, couplée ou non à une séparation chromatographique, pour générer des empreintes métaboliques, soit ciblées sur une liste pré-établie de composés qui sont alors quantifiés, soit sans *a priori*. La spectrométrie de masse repose sur la détection d'ions négatifs ou positifs formés dans la source du spectromètre de masse et séparés en fonction de leur rapport masse sur charge. Cette technique très sensible s'avère particulièrement bien adaptée à l'analyse des composés phénoliques qui représentent une forte proportion des métabolites détectés dans les vins par spectrométrie de masse [4-5]. Elle a fait ses preuves pour l'authentification des vins, certains profils métaboliques permettant de discriminer les vins suivant leur cépage ou leur origine géographique [4-5], le suivi des réactions des composés phénoliques [6], l'étude de l'impact des procédés de vinification, ou encore l'analyse des relations entre composition et des propriétés telles que la couleur [7].

Évolution des composés phénoliques du raisin au cours de la vinification

Les premières réactions intervenant au cours de la vinification sont les réactions d'oxydation enzymatique, catalysées par la PPO de raisin, dès que l'intégrité des cellules de la baie est rompue et que l'enzyme et son substrat phénolique sont mis au contact de l'air, c'est-à-dire au moment du foulage et du pressurage. L'acide caftarique est le substrat préférentiel de la PPO du raisin qui l'oxyde en *o*-quinone d'acide caftarique. Différentes réactions de cette quinone ont été décrites dans les moûts de raisin. En tant qu'électrophile, la quinone d'acide caftarique subit l'addition nucléophile du glutathion pour former le « grape reaction product » (GRP), identifié comme l'acide 2-S-glutathionyl caftarique, et ses isomères [8-9]. Elle peut également réagir avec des flavonoïdes et notamment les anthocyanes pour donner des adduits acide caftarique-anthocyanes [10]. Par ailleurs, elle peut aussi oxyder diverses molécules comme l'acide ascorbique ou les sulfites ou encore, par des mécanismes d'oxydation couplée, d'autres *o*-diphénols comme le GRP et les flavanols, pour donner des *o*-quinones dites secondaires, également très instables [11]. Par exemple, l'addition de la catéchine sur son *o*-quinone formée par oxydation enzymatique ou chimique conduit à des dimères de catéchine incolores (déhydrodicatéchine B) qui subissent une seconde oxydation intramoléculaire donnant naissance à des pigments jaunes (déhydrodicatéchine A) [12]. Ces différents mécanismes sont schématisés dans la figure 6.

Après cette première phase de réactions enzymatiques très rapides, l'évolution des composés phénoliques se poursuit par des réactions chimiques plus lentes. En particulier, les réactions des anthocyanes conduisent à de nombreux produits, incluant divers types de pigments, comme l'illustre la figure 6. Ainsi, les anthocyanes réagissent avec les acides hydroxycinnamiques ou les vinylphénols issus de leur décarboxylation et avec certains métabolites de levures produits pendant la fermentation alcoolique, comme l'acétaldéhyde et l'acide pyruvique, pour donner différents types de pyranoanthocyanes qui sont des pigments orangés. Ces

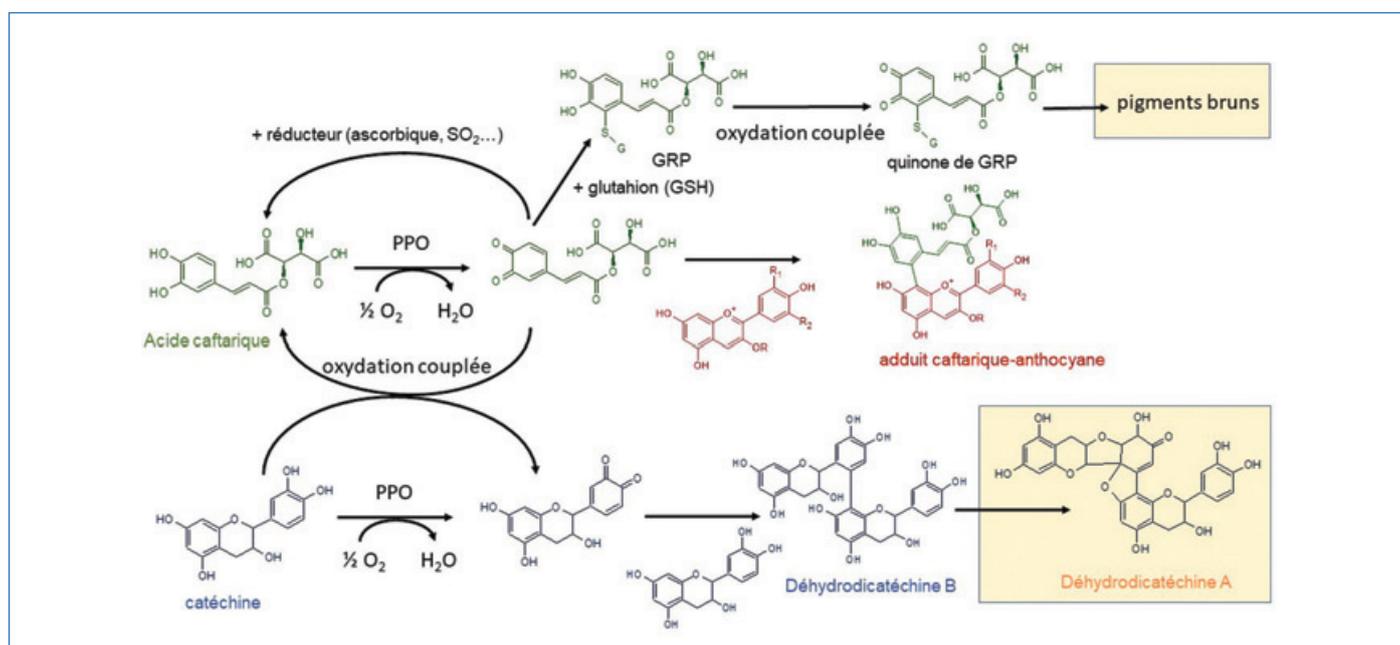


Figure 6 - Mécanismes d'oxydation enzymatique dans les moûts de raisin.

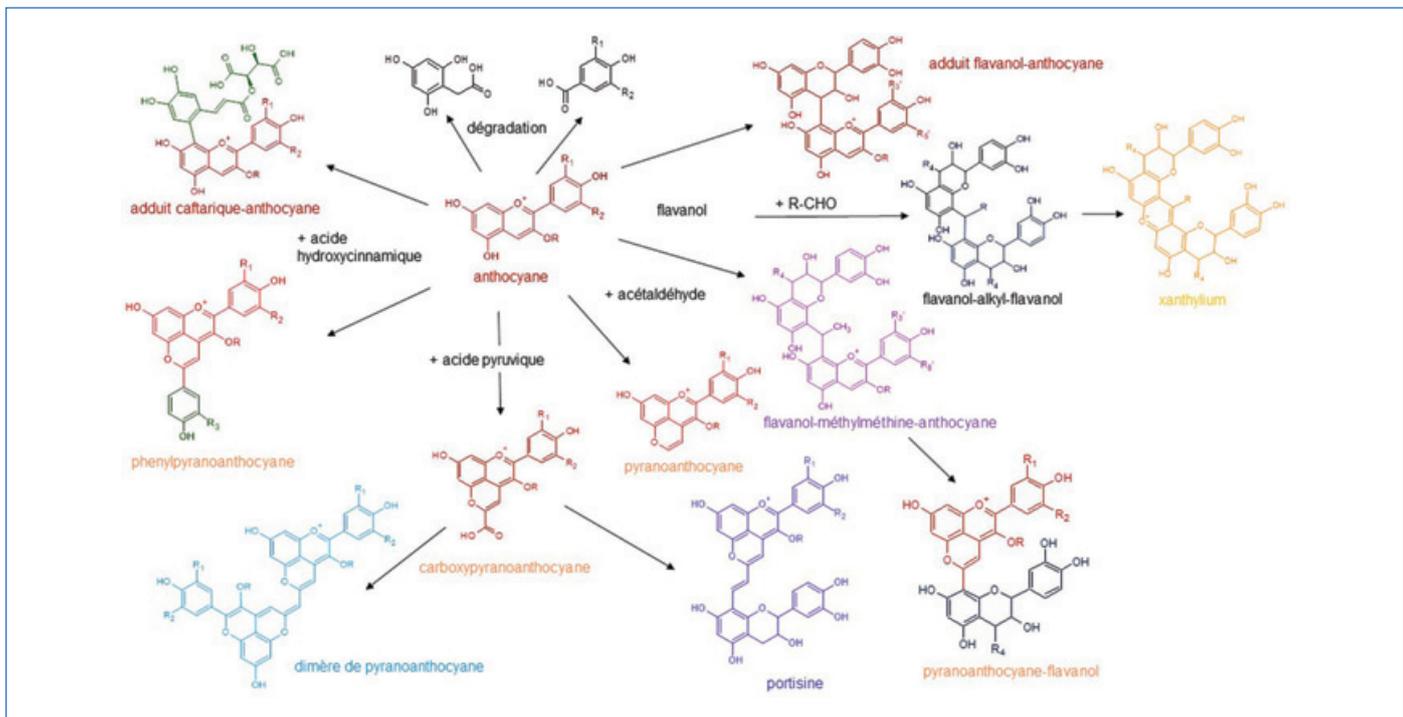


Figure 7 - Réactions des anthocyanes décrites dans les vins. Cette figure illustre aussi la formation des sels de xanthylum par condensation des flavanols avec les aldéhydes.

molécules sont résistantes à la décoloration par les sulfites comme aux réactions d'hydratation et se trouvent donc sous forme colorée dans les vins, à la différence de leurs précurseurs anthocyaniques majoritairement incolores. Les anthocyanes peuvent également réagir avec les flavanols pour former des adduits flavanol-anthocyanane présentant les mêmes propriétés que les anthocyanes (décoloration par les sulfites et par la réaction d'hydratation).

Une autre réaction très importante dans les vins rouges est la condensation des flavonoïdes (anthocyanes et/ou flavanols) avec les aldéhydes (R-CHO), et notamment l'acétaldéhyde (CH₃-CHO) qui génère des structures oligomériques dans lesquelles les unités de flavonoïdes sont reliées par des ponts alkyl R-CH (e.g. méthylméthine, souvent improprement appelé éthyl, dans le cas de l'acétaldéhyde). Lorsqu'au moins une des unités est une anthocyanane, ces structures sont de couleur violette et plus résistantes à la réaction d'hydratation que les anthocyanes, le chromophore étant protégé par un phénomène de copigmentation intramoléculaire. Cependant, les produits de condensation des flavonoïdes avec les aldéhydes sont instables et peuvent donner naissance, après rupture du pont méthylméthine, à des flavanol-pyranoanthocyanes ou, par une réaction de déshydratation et d'oxydation à des sels de xanthylum, de couleur orangée (figure 7).

Ces différents mécanismes et produits ont été mis en évidence en solution modèle ou dans les vins rouges, et notamment les vins de Porto, d'où d'autres produits plus complexes de couleur bleue, résultant des réactions de certaines pyranoanthocyanes, ont également été isolés [13]. Leur importance relative dépend des proportions des différents précurseurs impliqués (anthocyanes, flavanols, acides hydroxycinnamiques, métabolites de levures) et des conditions du milieu (pH, degré d'alcool, présence de catalyseurs métalliques ou apport d'oxygène notamment).

Ainsi, la diversité des substrats et des réactions décrites ci-dessus conduit à des milieux d'une très grande complexité, dans lesquels les produits connus ne représentent que la

partie émergée d'un « iceberg polyphénolique ». Ce phénomène a été récemment illustré sur des systèmes modèles simples utilisant les réactions de condensation de la catéchine et de la malvidine 3-glucoside avec l'acétaldéhyde pour établir une preuve de concept. Ainsi, une stratégie basée sur une approche métabolomique sans a priori par spectrométrie de masse haute résolution (HRMS) a permis de mettre en évidence de grandes séries de molécules (80 formules brutes à partir d'un seul substrat phénolique, plus de 160 à partir de deux), incluant les produits de réaction attendus, mais aussi des composés jusqu'alors inconnus, issus de cascades de réactions aléatoires [6].

Composition phénolique des vins rosés

Les travaux sur la composition phénolique des vins rosés sont encore peu nombreux. Cependant, la comparaison de vins rouges [14] et rosés [15] issus d'un même cépage, le Grenache noir, montre qu'ils présentent des compositions très différentes (figure 8). En effet, si les concentrations des composés phénoliques sont évidemment bien inférieures dans les rosés, leurs proportions sont également fortement impactées par le mode de vinification, avec une prédominance des flavanols et notamment des tanins dans les rouges, et des acides hydroxycinnamiques dans les rosés. De ce fait, les anthocyanes présentes dans le Grenache rosé réagissent préférentiellement avec les acides hydroxycinnamiques pour former des phénylpyranoanthocyanes (AH-pyranoA), de couleur saumon et résistantes à la décoloration par les sulfites.

Dans une étude plus récente, une méthode d'analyse métabolomique ciblée reposant sur la spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide a été développée pour déterminer la concentration de 125 composés phénoliques [16], puis appliquée à la caractérisation de 268 vins rosés commerciaux [7]. La couleur de ces vins a également été analysée par spectrophotométrie et leurs coordonnées

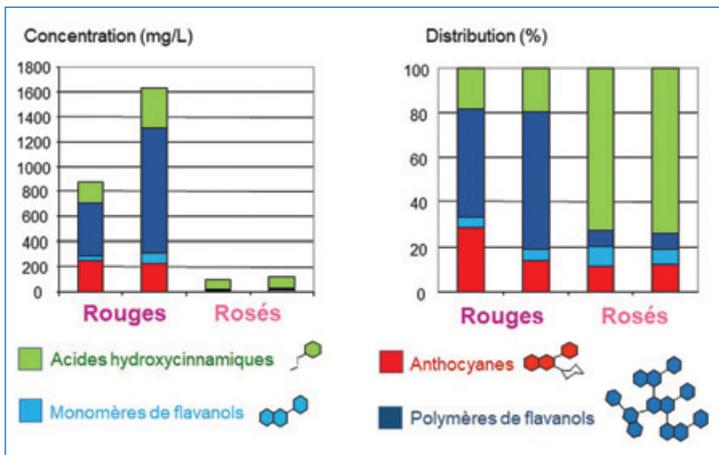


Figure 8 - Comparaison des compositions phénoliques de vins de Grenache rouges et rosés (adapté de [14] et [15]).

tristimulaires L^* , a^* et b^* , représentant respectivement la luminosité, et les composantes rouge et jaune de la couleur ont été déterminées. Trois groupes ont été arbitrairement constitués sur la base de l'intensité colorante (IC), calculée par la somme des absorbances à 420 nm (jaune), 520 nm (rouge) et 620 nm (bleu): rosés clairs ($IC < 0,5$), intermédiaires et foncés ($IC > 1$). Les liens entre la couleur, évaluée à l'aide des coordonnées tristimulaires L^* , a^* et b^* , et la composition des vins ont été explorés par une méthode d'analyse multivariée non supervisée, l'analyse en composantes principales (ACP). Les projections des variables sur les deux premières composantes principales obtenues pour les groupes de vins clairs et foncés montrent que l'intensité de la couleur, et notamment de sa composante rouge, est déterminée en grande partie par l'extraction des composés phénoliques, mais aussi que les pigments des deux groupes de vins présentent des profils très différents (figure 9).

Ainsi, la composition des vins rosés les plus colorés est proche de celle des vins rouges, avec des concentrations élevées d'anthocyanes, de flavanols et de pigments issus des réactions de ces deux familles. La composante jaune de la couleur de ces vins est plus difficile à expliquer mais semble principalement liée à l'oxydation. En effet, elle est associée à de plus fortes teneurs de produits de condensation des flavanols et des

anthocyanes avec l'acétaldéhyde qui résulte de l'oxydation de l'éthanol. La teinte saumonée des rosés les plus clairs reflète la présence de phénylpyranoanthocyanes et de carboxypyrananthocyanes, résultant respectivement des réactions des anthocyanes avec les acides hydroxycinnamiques et avec l'acide pyruvique. Ces pigments sont en effet de couleur saumonée et leur contribution importante à la couleur des vins présentant cette nuance s'explique par le fait qu'ils restent sous forme colorée au pH du vin et en présence de sulfites à la différence des anthocyanes, plus abondantes mais majoritairement incolores dans ces conditions (figure 9).

La même approche a été appliquée à l'analyse de vins rosés élaborés par le Centre du Rosé, dans des conditions expérimentales contrôlées, à partir des cépages Grenache, Syrah et Cinsault emblématiques de la Provence [17]. Cette étude a démontré que la composition phénolique et la couleur ne dépendent pas uniquement de la durée de macération mais également du cépage. Les rosés de Syrah sont beaucoup plus colorés, bien qu'ils soient généralement obtenus avec des macérations plus courtes, et présentent un profil phénolique de type « rosé foncé », riche en anthocyanes et en flavanols comme celui des vins rouges. En revanche, la composition des vins de Grenache et de Cinsault est caractéristique du groupe des vins rosés clairs décrit précédemment, riches en acides hydroxycinnamiques et en pigments dérivés de ces composés. La comparaison des données obtenues par spectrophotométrie UV-visible avec les données de composition souligne cependant qu'une forte proportion des composés phénoliques présents dans ces vins ne figure pas parmi les composés dosés par l'approche métabolomique ciblée. L'analyse des moûts et des vins par chromatographie d'exclusion stérique a confirmé la présence de composés de masse proche de celle des procyanidines oligomères (élution entre 22 et 26 minutes), non ciblés par la méthode, comme cela est illustré pour la Syrah et le Cinsault (figure 10). Les profils chromatographiques obtenus à différentes longueurs d'onde suggèrent qu'ils renferment à la fois des motifs structuraux de types acides hydroxycinnamiques (absorbance à 320 nm) et des pigments jaunes (absorbance à 420 nm) et rouges (absorbance à 520 nm). Ces composés de haute masse s'adsorbent sur les lies de levures, ce qui explique leur disparition en cours de fermentation (figure 10).

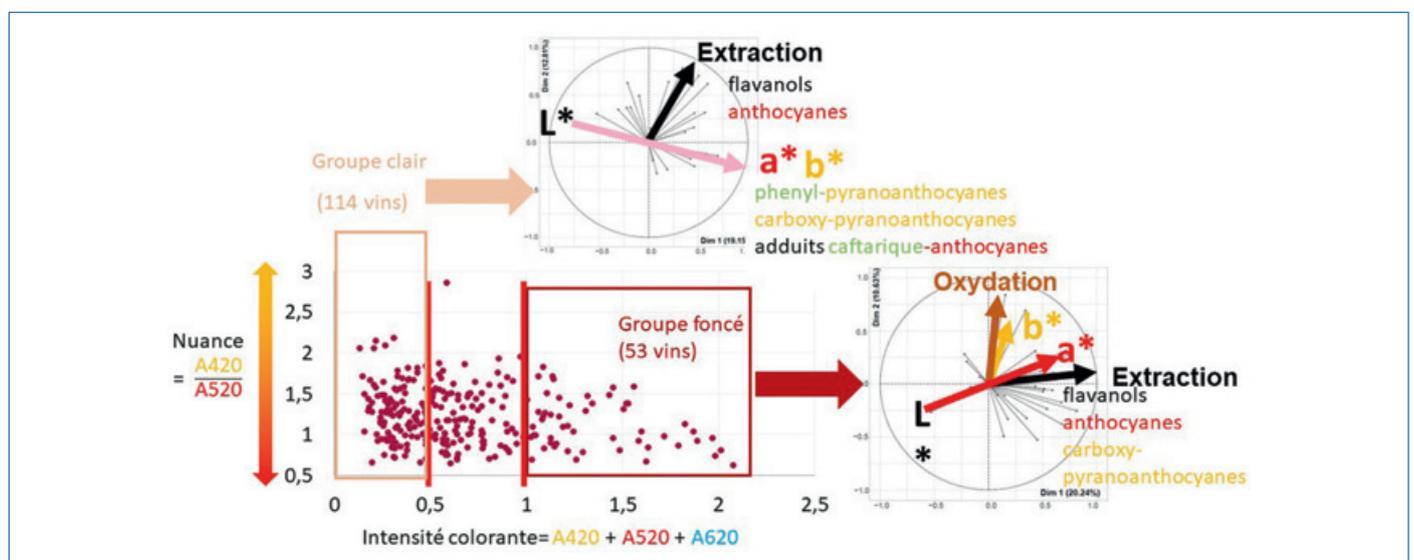


Figure 9 - Représentation des vins en fonction de leur couleur (intensité colorante et nuance) et étude par analyse en composantes principales des liens entre couleur et composition phénolique pour les groupes clairs et foncés (adapté de [7]).

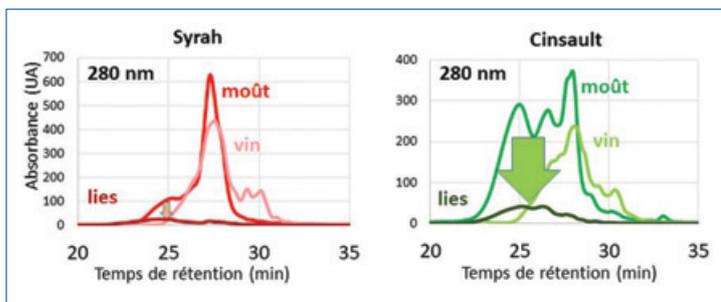


Figure 10 - Comparaison des profils de chromatographie d'exclusion stérique avec une détection à 280 nm obtenus sur les moûts, les vins et les composés désorbés à partir des levures.

Les vins rosés n'ont pas encore livré tous leurs secrets...

Les travaux récents réalisés en collaboration entre INRAE (UMR Sciences pour l'œnologie), le Centre du Rosé et l'Institut français de la vigne et du vin (IFV) ont permis de grands progrès dans la compréhension des mécanismes à l'origine de la large palette de couleurs des vins rosés.

L'analyse chimiométrique des données de couleur et de composition phénolique obtenues par spectrométrie de masse avec une approche métabolomique ciblée a confirmé que les rosés clairs et plus foncés ne diffèrent pas simplement par un facteur de concentration, mais que ces différents styles résultent de compositions phénoliques différentes. L'analyse par spectrophotométrie UV-visible, directement ou après une séparation par chromatographie d'exclusion stérique, a révélé la présence de composés non analysés par la méthode ciblée, résultant probablement de phénomènes d'oxydation et qui pourraient contribuer à la couleur, notamment dans les vins les plus clairs. Ces résultats illustrent la complémentarité des informations apportées par différentes méthodes d'analyse et soulignent la complexité de la composition phénolique des vins rosés.

Grâce à ces travaux, certains liens entre la composition phénolique, la couleur et les itinéraires de vinification ont pu être explicités. En particulier, une forte influence du cépage d'une part sur l'extraction des composés phénoliques, d'autre part sur les phénomènes d'oxydation enzymatiques intervenant avant fermentation, a été mise en évidence. La fermentation joue également un rôle important mais variable suivant le cépage et la composition du moût initial dans l'évolution de la couleur. Ainsi, parmi les cépages emblématiques de la Provence, la Syrah donne des moûts très colorés qui conservent leur coloration au cours de la fermentation, les anthocyanes étant transformés en d'autres pigments. En revanche, de fortes pertes de couleur sont observées en cours de fermentation sur le Cinsault et le Grenache, en grande partie imputables à l'adsorption des pigments de haute masse sur les levures.

Cependant, la couleur des vins rosés n'a pas livré tous ses secrets. Des travaux basés sur des approches de métabolomique sans a priori par spectrométrie de masse haute résolution et par résonance magnétique nucléaire sont en cours pour détecter et caractériser les composés inconnus, en déterminer les propriétés et en élucider les mécanismes de formation. La compréhension de ces structures et des réactions et interactions impliquées dans l'évolution des pigments permettra de rationaliser la sélection de la matière première, notamment en lien avec le développement de nouvelles variétés plus résistantes aux pathogènes et mieux adaptées aux

contraintes liées au changement climatique. La sélection de levures de fermentation capables de libérer des métabolites qui réagissent avec les anthocyanes du raisin pour former de nouveaux pigments plus stables ou d'adsorber certains composés présentant des caractéristiques indésirables constitue une piste de recherche importante.

D'autres études en cours visent à réduire l'apport d'additifs et notamment du SO₂, ajouté comme antioxydant, qui décolore les anthocyanes, et d'adjuvants, tels que les agents de collage (PVPP (polyvinylpolypyrrolidone), charbon actif, protéines...) utilisés pour l'élimination sélective de certains composés, ou à optimiser ces procédés et produits.

Les connaissances acquises grâce à ces travaux permettront aux producteurs de mieux maîtriser la couleur, et ainsi de mieux répondre aux attentes des consommateurs.

- [1] P. Trouillas, J. Sancho-García, V. de Freitas, J. Gierschner, M. Otyepka, O. Dangles, Stabilizing and modulating color by copigmentation: insights from theory and experiment, *Chem. Rev.*, **2016**, *116*, p. 4937-82.
- [2] J. Cruz, N. Basilio, N. Mateus, V. de Freitas, Natural and synthetic flavylum-based dyes: the chemistry behind the color, *Chem. Rev.*, **2022**, *122*, p. 1416-81.
- [3] C. Timberlake, P. Bridle, Flavylum salts, anthocyanidins and anthocyanins. II. Reactions with sulphur dioxide, *J. Sci. Food Agric.*, **1967**, *18*, p. 473-478.
- [4] G. Mazerolles, V. Cheynier *et al.*, Combination of several mass spectrometry ionization modes: a multiset data analysis for a rapid characterization of the red wine polyphenolic composition, *Anal. Chim. Acta*, **2010**, *678*, p. 195-202.
- [5] P. Arapitsas *et al.*, Use of untargeted liquid chromatography-mass spectrometry metabolome to discriminate Italian monovarietal red wines, produced in their different terroirs, *J. Agric. Food Chem.*, **2020**, *68*, p. 13353-366.
- [6] A. Vallverdú-Queralt *et al.*, The hidden face of wine polyphenol polymerization highlighted by high-resolution mass spectrometry, *ChemistryOpen*, **2017**, *6*, p. 336-339.
- [7] C. Leborgne *et al.*, Elucidating the color of rosé wines using polyphenol targeted metabolomics, *Molecules*, **2022**, *27*, 1359.
- [8] V. Cheynier, E. Trousdale, V.L. Singleton, M. Salgues, R. Wylde, Characterization of 2-S-glutathionylcaftaric acid and its hydrolysis in relation to grape wines, *J. Agric. Food Chem.*, **1986**, *34*, p. 217-221.
- [9] N. Ferreira-Lima, A. Vallverdu-Queralt *et al.*, Synthesis, identification, and structure elucidation of adducts formed by reactions of hydroxycinnamic acids with glutathione or cysteinylglycine, *J. Nat. Prod.*, **2016**, *79*, p. 2211-22.
- [10] P. Sarni-Manchado, V. Cheynier, M. Moutounet, Reaction of enzymically generated quinones with malvidin-3-glucoside, *Phytochemistry*, **1997**, *45*, p. 1365-69.
- [11] V. Cheynier, H. Fulcrand, S. Guyot, J. Oszmianski, M. Moutounet, Reactions of enzymically generated quinones in relation to browning in grape musts and wines, in *Enzymatic Browning and its Prevention in Foods*, C.Y. Lee, J.R. Whitaker (eds), American Chemical Society, **1995**, p. 130-143.
- [12] S. Guyot, J. Vercauteren, V. Cheynier, Colourless and yellow dimers resulting from (+)-catechin oxidative coupling catalysed by grape polyphenoloxidase, *Phytochemistry*, **1996**, *42*, p. 1279-88.
- [13] V. De Freitas, N. Mateus, Formation of pyranoanthocyanins in red wines: a new and diverse class of anthocyanin derivatives, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2011**, *401*, p. 1463-73.
- [14] J. Wirth *et al.*, The impact of oxygen exposure before and after bottling on the polyphenolic composition of red wines, *Food Chem.*, **2010**, *123*, p. 107-116.
- [15] J. Wirth *et al.*, Impact of post-bottling oxygen exposure on the sensory characteristics and phenolic composition of Grenache rosé wines, *Food Chem.*, **2012**, *132*, p. 1861-71.
- [16] M. Lambert *et al.*, A high-throughput UHPLC-QqQ-MS method for polyphenol profiling in rose wines, *Molecules*, **2015**, *20*, p. 7890-914.
- [17] C. Leborgne *et al.*, Multi-method study of the impact of fermentation on the polyphenol composition and color of Grenache, Cinsault, and Syrah rosé wines, *Food Chem.*, **2023**, *403*, 134396.

Cécile LEBORGNE^{1,2,3}, ingénieure de recherche INRAE, **Gilles MASSON**², directeur du Centre de recherche et d'expérimentation sur le vin rosé, **Marie-Agnès DUCASSE**³, ingénieure R&D, **Aude VERNHET**¹, professeure, **Jean-Claude BOULET**^{1,4}, ingénieur de recherche INRAE, **Nicolas SOMMERER**^{1,4}, ingénieur de recherche INRAE, **Jean-Roch MOURET**¹, directeur de recherche INRAE, et **Véronique CHEYNIER**^{1,4*}, directrice de recherche INRAE.

¹SPO, INRAE, Université de Montpellier, Institut Agro, Montpellier.

²Institut Français de la Vigne et du Vin, Centre du Rosé, Viduban.

³Institut Français de la Vigne et du Vin, Domaine de Pech Rouge, Gruissan.

⁴INRAE, PROBE Research Infrastructure, PFP Polyphenol Analysis Facility, Montpellier.

* veronique.cheynier@inrae.fr

Du terroir à la bulle : la science du champagne

Résumé Depuis les vendanges jusqu'à la formation des bulles de CO₂ dans une flûte, la science du champagne s'inscrit dans une œnologie à la fois traditionnelle et à la pointe de la modernité. Cet article présente une vue d'ensemble des processus qui accompagnent l'élaboration et la dégustation du champagne, depuis la première fermentation alcoolique qui transforme le jus de raisin en un vin clair, jusqu'à l'éclatement des bulles dans le verre, en passant par la prise de mousse qui permet la dissolution massive de CO₂ dans le vin, l'autolyse des levures qui modifie au fil des ans la chimie complexe des arômes du champagne, et le débouchage de la bouteille qui s'accompagne de spectaculaires phénomènes de condensation.

Mots-clés Champagne, CO₂, bulles, effervescence, arômes.

Abstract From land to bubble, the science of champagne

From the harvest to the formation of CO₂ bubbles in a glass, the science of champagne is both traditional and at the forefront of modern developments. This article provides an overview of the various processes at play during the elaboration and tasting of champagne, from the first alcoholic fermentation which transforms the grape juice into a clear wine, to the bursting of bubbles in your glass, passing through the "prise de mousse" which allows the massive dissolution of gas-phase CO₂ in the wine, the autolysis of the yeasts which modifies over the years the complex chemistry of champagne aromas, and the cork popping process involving visually appealing condensation phenomena.

Keywords Champagne, CO₂, bubbles, effervescence, aromas.

Le champagne est un vin mousseux de qualité produit dans une région déterminée, en l'occurrence en Champagne (un « VMQPRD », comme on l'exprime dans le jargon communautaire). De nos jours, la technique d'élaboration du champagne n'est pas fondamentalement différente de la méthode empirique mise au point vers la fin du XVII^e siècle. Cette méthode comporte différentes étapes bien distinctes qui transforment progressivement le jus de raisin en un vin effervescent de grande qualité, symbole de l'excellence et du savoir-faire champenois.

Une première fermentation alcoolique

Le vignoble champenois est le plus septentrional des vignobles français. L'aire de production de l'appellation d'origine contrôlée (AOC) Champagne couvre aujourd'hui quelque 34 300 hectares. Au fil des siècles, la nature a tout naturellement guidé la sélection des cépages les mieux adaptés au terroir et au climat champenois. Le chardonnay (un raisin blanc), le pinot noir et le meunier (deux variétés de raisin noir) y sont aujourd'hui très largement majoritaires. L'arbane, le petit meslier, le pinot blanc et le pinot gris (quatre variétés de raisins blancs) sont également autorisés, mais représentent moins de 0,3 % du vignoble champenois.

Une fois vendangés, les raisins sont pressés séparément en fonction de chaque cépage, mais également de leur parcelle d'origine. Les jus sont ensuite chaptalisés par ajout de sucre exogène, puisensemencés en levures sélectionnées (du genre *Saccharomyces cerevisiae*). Ils sont alors transférés dans des contenants plus ou moins volumineux. Jusqu'au début du XX^e siècle, les vinifications étaient conduites essentiellement dans des fûts de chêne d'une contenance de 205 litres. De nos jours, la vinification est néanmoins le plus souvent réalisée dans des cuves en acier inoxydable et thermo-régulées (figure 1). Débute alors la première fermentation alcoolique, qui durera environ huit jours, et qui s'exprime par l'équation

bilan suivante :



Lors de la fermentation alcoolique, chaque molécule de glucose contenue dans le moût de raisin se transforme sous l'action des levures pour libérer deux molécules d'éthanol et deux molécules de dioxyde de carbone (on évoque parfois le gaz carbonique par abus de langage). C'est le chimiste français Joseph-Louis Gay-Lussac qui, le premier, décrit scientifiquement le processus de la fermentation en 1815, démontrant que le glucose constituait le matériau de base indispensable pour produire de l'éthanol. La façon dont la levure intervient dans la fermentation ne fut pas clairement établie avant 1857, date à laquelle Louis Pasteur découvrit non seulement que le processus ne requiert pas d'oxygène, mais que la production d'alcool est même réduite par sa présence.

Pendant cette première fermentation alcoolique, on compte 46 litres de CO₂ gazeux rejetés pour chaque litre de moût, d'où l'importance de posséder de puissants extracteurs au sommet des cuves afin de renouveler régulièrement l'atmosphère d'une cuverie et ne pas risquer d'intoxication au CO₂. Le pourcentage volumique d'éthanol généré par cette première fermentation alcoolique est de 11 % environ. À ce stade, le vin de Champagne est donc encore un vin blanc tranquille (on parle alors d'un vin clair), non effervescent, le gaz carbonique s'échappant des cuves laissées ouvertes au cours de la première fermentation alcoolique.

L'art de l'assemblage

Il est rare qu'un vin clair issu d'une même récolte, d'un même terroir et d'un même cépage présente le parfait équilibre requis entre l'arôme, la teneur en sucre et l'acidité nécessaire pour obtenir un bon champagne. C'est pourquoi un maître de chai (en Champagne, on parle d'un chef de cave) mélange plusieurs vins différents en procédant à l'assemblage, étape qui prend place juste après la fin de la première fermentation.



Figure 1 - Cuves thermorégulées de la maison de champagne Deutz à Ay ; elles font plusieurs mètres de haut et ont une capacité de plusieurs centaines d'hectolitres. (Emmanuel Goulet/Éditions Ellipses, DR).

On assemblera parfois des dizaines de vins clairs issus de récoltes, de parcelles et de cépages différents pour produire un champagne. Cette étape requiert une grande attention et un immense savoir-faire car il est extrêmement difficile de prévoir le résultat final pour un champagne qui ne sera souvent consommé que des années plus tard. Le vin ainsi assemblé constitue alors la base qui sera soumise à la « prise de mousse », une seconde fermentation alcoolique destinée à conférer au champagne son indispensable effervescence.

La prise de mousse, une seconde fermentation alcoolique en milieu clos

Une fois l'assemblage réalisé, on rajoute au vin de base du sucre (généralement 24 à 25 g/L de vin) et des levures. Le vin de base assemblé et sucré est alors versé dans d'épaisses bouteilles, généralement scellées par des capsules identiques à celles qui obturent les bouteilles de bière (figure 2). Les bouteilles sont ensuite disposées à l'horizontale dans une cave dont la température (12 à 14 °C) et l'hygrométrie demeurent constantes. On laisse le vin fermenter lentement une seconde fois, afin qu'il produise à nouveau de l'éthanol et du gaz carbonique. C'est l'étape cruciale de la prise de mousse, qui donnera son caractère effervescent au vin de Champagne.

La consommation du sucre par les levures entraîne une augmentation du degré volumique d'alcool de l'ordre de 1,4 à 1,5° dans le vin, qui atteint ainsi son degré alcoolique final de l'ordre de 12,5 %. Cette seconde fermentation alcoolique produit quant à elle presque 12 g de CO₂ par litre de vin, soit l'équivalent de presque 5 litres de CO₂ gazeux (sous 1 bar et à 20 °C) par bouteille de 75 cl [1]. Au cours de la prise de mousse, un équilibre thermodynamique s'établit alors progressivement entre les vapeurs de gaz carbonique qui restent piégées sous pression dans l'espace de tête de la bouteille et le gaz carbonique qui se dissout lentement dans le vin. Conformément à la loi de Henry (voir éq. 2), la concentration c_L en CO₂ dissous dans le vin est proportionnelle à la pression partielle P_B de CO₂ dans le col de bouteille :

$$c_L = k_H P_B \quad (2)$$

où le coefficient de proportionnalité k_H (qu'on appelle aussi la constante de Henry du CO₂ dans le vin) s'avère être très dépendant de la température du vin [2].

Dans une solution aqueuse composée à presque 85 % d'eau en volume, comme le champagne, le CO₂ est très soluble. Sa constante de Henry est donc très élevée, de l'ordre de 2 g.L⁻¹ bar⁻¹ (à 12 °C). Or la dépendance exponentielle en température de la constante de Henry d'un gaz en solution aqueuse induit une très forte sensibilité de sa solubilité avec



Figure 2 - Le vin de base entame une seconde fermentation alcoolique (la prise de mousse) dans d'épaisses bouteilles généralement scellées par des capsules identiques à celles qui obturent les bouteilles de bière. (Virginie Thollin/Éditions Ellipses, DR).

la température (plus le vin est froid et plus la constante de Henry augmente). La pression du CO₂ dans la bouteille sera donc en retour inévitablement très sensible à la température de ladite bouteille. En combinant la loi de Henry, la loi des gaz parfaits et la conservation de la matière, il devient possible de calculer très précisément la pression de gaz carbonique qui règne dans une bouteille close, ainsi que la concentration en CO₂ dissous dans le vin, en fonction de sa température T [3] :

$$\begin{cases} P_B = \frac{n_T RT}{V_G + k_H RT V_L} \\ c_L = \frac{n_T k_H RT}{V_G + k_H RT V_L} \end{cases} \quad (3)$$

où n_T est le nombre de moles de CO₂ produit dans la bouteille au cours de la prise de mousse ($\approx 0,2$ mole dans chaque bouteille de 75 cl pour un champagne qui a classiquement effectué sa prise de mousse avec une concentration en sucre de 24-25 g.L⁻¹), V_L est le volume de champagne, V_G est le volume du ciel gazeux dans le col de bouteille (de l'ordre de 20 mL) et R est la constante des gaz parfaits (qui vaut 8,31 J K⁻¹ mol⁻¹)⁽¹⁾.

Par application de l'équation 3, en tenant bien compte de la variation de la solubilité du CO₂ avec la température du vin, on peut tracer la dépendance en température de la pression et de la concentration en CO₂ dissous dans une bouteille de champagne de 75 cl (figure 3). La concentration du champagne en CO₂ dissous atteint environ 11,5 g/L en fin de prise de mousse et varie assez peu avec la température de la bouteille, contrairement à la pression qui, elle, varie considérablement avec la température. Elle passe de 4,5 bars pour une bouteille à 5 °C, à presque 8 bars pour une bouteille à 20 °C. Il existe bien entendu d'autres espèces gazeuses que le CO₂ en équilibre thermodynamique dans une bouteille

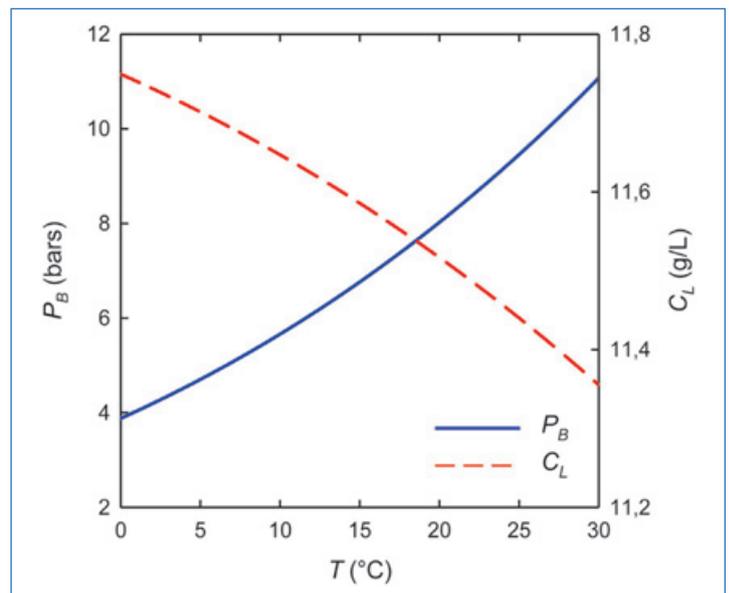


Figure 3 - Dépendance en température de la pression et de la concentration en CO₂ dissous, en fin de prise de mousse, dans une bouteille de champagne de 75 cl tirée à 24 g.L⁻¹ de sucre. (Gérard Liger-Belair/Éditions Ellipses, DR).

de champagne, comme le diazote, l'eau ou l'éthanol par exemple. Cependant, compte tenu de la très grande quantité de CO₂ produite lors de la prise de mousse, la pression partielle des autres espèces gazeuses en présence est totalement négligeable devant celle du CO₂ (à l'exception peut-être du diazote qui peut avoisiner 0,5 bar).

Le vieillissement sur lies

Les levures ne survivent pas à la prise de mousse, qui s'achève au bout de quelques semaines. Faute de sucre (il a été consommé en totalité par les levures), dans un environnement

Encadré

La chimie complexe des arômes du champagne

Le champagne est élaboré à partir de trois cépages (chardonnay, pinot noir et meunier, séparément ou en assemblages) qui sont dits non aromatiques, c'est-à-dire qui ne contiennent pas de composés spécifiquement responsables d'arômes qui se retrouveraient dans le vin, contrairement au cépage muscat ou gewürztraminer par exemple. Les cépages utilisés en champagne ne contiennent que des précurseurs non volatils de molécules odorantes. Les précurseurs d'arôme connus à ce jour sont de différentes natures et correspondent à l'association du composé odorant à une molécule de type glucoside par exemple. C'est au cours de la vinification et en particulier de la fermentation alcoolique que de telles associations inodores vont libérer des métabolites odorants par l'action de systèmes enzymatiques qui vont couper cette liaison glucosidique. Cependant, la particularité des cépages utilisés pour l'élaboration du champagne (en particulier le chardonnay et le pinot noir) est que, dans les vins, leurs arômes ne peuvent pas être associés à un composé unique. Au contraire, ils sont le résultat d'un mélange complexe de nombreuses molécules d'origines fermentaire et non fermentaire (donc provenant du raisin).

Parmi les familles de molécules qui participent à l'arôme de ces vins, on peut citer entre autres des acides organiques (tels que les acides méthylbutanoïque et octanoïque, par exemple) avec des odeurs décrites comme douces, épicées, rances..., des alcools supérieurs (comme le pentenol ou l'hexenol) avec des odeurs décrites comme herbacées, des norisoprénoïdes (comme la bêta-damascenone ou la bêta-ionone) avec des odeurs décrites comme florales, douces, et bien sûr des esters (l'hexanoate d'éthyle, l'octanoate d'éthyle et bien d'autres) avec des odeurs décrites comme fruitées, de banane ou de fraise, par exemple [8].

La nature des molécules qui participent à l'arôme et à la saveur du champagne est évidemment influencée par la seconde fermentation qui correspond à la prise de mousse en méthode traditionnelle champenoise. En effet, la période pendant laquelle le vin est au contact de levures peut durer plusieurs années pendant lesquelles les levures vivantes puis en autolyse vont libérer des métabolites responsables d'arômes secondaires du champagne. Parmi ceux-ci, on trouve notamment les esters, les acides gras et les alcools. Cependant, au cours de cette étape d'élevage, les teneurs en ces composés peuvent également être modulées par le fait que les lies de levures ont la propriété d'adsorber ces composés. Il en va de même avec les molécules de tanins, les complexes tanins-protéines ou les complexes tanins-anthocyanes (dans le cas des champagnes rosés), qui participent à l'astringence et à la couleur des vins. Enfin, les arômes qui caractérisent les vieux champagnes évoquent des odeurs de torréfaction, de brioche ou de pain grillé. Ces arômes sont dus à la formation de composés soufrés volatils (comme le mercaptopropionate d'éthyle ou le furanémethanethiol, par exemple) dont la concentration augmente avec l'âge du champagne [8].

En conclusion, pour les vins tranquilles comme pour les champagnes, les parfums ne sont pas seulement le résultat de la présence de molécules odorantes distinctes, mais également le produit de complexes interactions synergiques ou antagonistes entre ces différentes molécules ou entre ces molécules et d'autres composés du vin tels que les macromolécules (protéines, polysaccharides). Ainsi, de nombreux paramètres physico-chimiques – acidité, teneur en alcool, en tanins, en sucres... et bien sûr la présence de CO_2 dissous – contribuent à la complexité du bouquet finalement perçu par le dégustateur [3].

riche en éthanol et sous une pression de l'ordre de 6 bars, les levures meurent progressivement. Le champagne continue néanmoins de vieillir tranquillement dans la fraîcheur des caves pendant au minimum quinze mois. Commence alors la phase d'autolyse des levures qui se transforment progressivement en lies enrichissant très lentement le vin en acides aminés, en protéines et en constituants volatils, conférant ainsi des arômes nouveaux et complexes au champagne [4-5]. Cette étape peut durer plusieurs années et même plusieurs décennies pour les cuvées les plus prestigieuses [6]. Après une vingtaine d'années de vieillissement sur lies, le champagne exhale des notes grillées, torréfiées. Puis, après 30-35 ans, il acquiert des arômes nobles de café et même de truffe pour certains très vieux millésimes [7] (voir encadré).

Lors du vieillissement sur lies, un autre phénomène d'importance vient se greffer. La capsule (ou parfois même le bouchon en liège) qu'on utilise pour obturer la bouteille lors de cette étape n'est pas absolument hermétique aux échanges gazeux. La bouteille étant sous une pression très élevée de gaz carbonique, du CO_2 va progressivement s'en échapper au fil des ans. La pression de gaz carbonique au sein de la bouteille va donc diminuer progressivement. En retour, la concentration en CO_2 dissous du champagne diminuera aussi, conformément à l'équilibre de Henry. Connaissant la perméabilité de la capsule ou du bouchon qui obstrue la bouteille lors de cette étape, on peut anticiper la décroissance progressive, au fil des ans, de la concentration en gaz carbonique dissous dans le champagne (figure 4). Cette décroissance progressive de la concentration en CO_2 dissous lors du vieillissement sur lies aura des conséquences importantes sur l'intensité de l'effervescence et la taille des bulles lors de la dégustation [1].

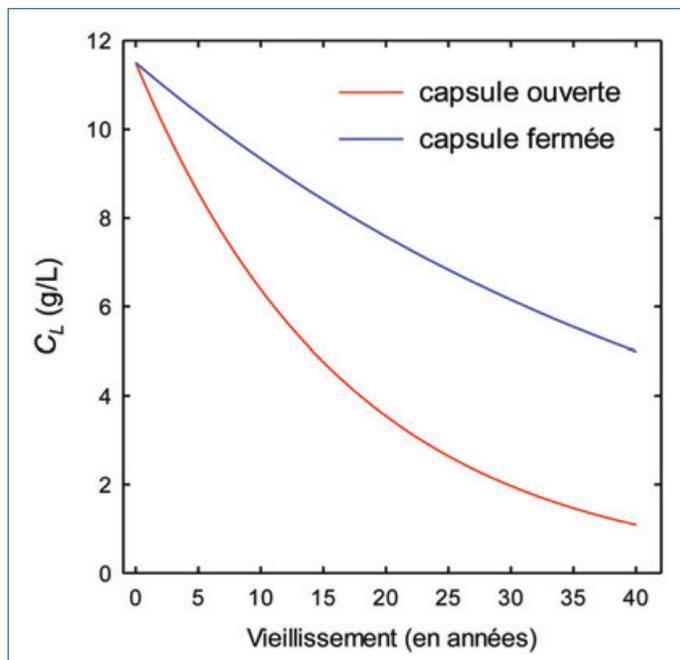


Figure 4 - En fonction de la perméabilité de la capsule qui scelle la bouteille (on parle alors de capsules plutôt ouvertes ou bien plutôt fermées), il est possible de prédire l'évolution temporelle de la concentration en CO_2 dissous dans le champagne lors du vieillissement sur lies, pour un champagne tiré à 24 g.L^{-1} de sucre au moment de la prise de mousse. (Gérard Liger-Belair/Éditions Ellipses, DR).

Remuage, dégorgement et dosage

Lorsque le vieillissement sur lies prend fin, un problème demeure : il faut se débarrasser des levures mortes, faute de



Figure 5 - Jadis exclusivement manuel, le remuage des bouteilles est aujourd'hui largement automatisé à l'aide de gyropalette. (Rohrscheid et Michel Guillard/Collection CIVC, DR).

quoi le champagne serait trouble au moment de le consommer. On utilise alors la technique du remuage : les bouteilles sont placées sur des pupitres, le goulot incliné vers le bas, et chaque jour le remueur leur donne un léger mouvement de rotation en redressant peu à peu la bouteille afin que le dépôt descende progressivement dans le col. Aujourd'hui, des gyropalette tendent à remplacer la main de l'homme, accélérant ainsi le processus (figure 5).

L'étape suivante est le dégorgement qui consiste à congeler le col de chaque bouteille, créant ainsi un bouchon de glace qui emprisonne les levures mortes dans le goulot. Les bouteilles sont alors décapsulées une à une. Le bouchon de glace qui piège les levures se retrouve naturellement chassé par la très forte pression de gaz carbonique hors du goulot de la bouteille. Jadis, cette étape était également réalisée à la main, avant d'être automatisée. Une petite quantité de vin est fatalement perdue au cours du dégorgement ; elle doit donc être remplacée pour remettre chaque bouteille à niveau, ce qui nous amène à l'ultime étape de l'élaboration du champagne : le dosage.

Cette opération consiste à ajouter dans la bouteille une petite quantité de liqueur (un mélange de sucres et de vieux vins) pour remplacer le liquide perdu lors du dégorgement. Le caractère du champagne figurant sur l'étiquette – allant de l'extra brut au doux – dépend de la quantité de sucre ajoutée lors de cette étape. Les bouteilles sont ensuite rapidement rebouchées avec un bouchon en liège qui va permettre à l'équilibre thermodynamique du gaz carbonique de se recréer dans la bouteille close. Elles sont ensuite muselées à l'aide d'un fil d'acier galvanisé (pour empêcher les bouchons d'être expulsés sous l'effet de la pression) et étiquetées. En quelques heures, la pression de CO_2 est rétablie dans les bouteilles à une valeur néanmoins légèrement plus faible que celle atteinte à la fin de la prise de mousse, car l'opération du dégorgement a fait perdre un peu de gaz carbonique au système [3]. Les bouteilles se reposent ensuite pendant deux mois environ afin

de permettre une bonne homogénéisation de la liqueur au sein du champagne. Elles sont alors enfin prêtes à être commercialisées et dégustées.

Composition chimique et viscosité d'un champagne prêt à être dégusté

Au sens strictement chimique, le champagne s'apparente donc à une solution hydroalcoolique complexe, saturée en CO_2 dissous et acide (son pH est de l'ordre de 3). Sa densité est proche de celle de l'eau. Sa composition chimique fine varie bien entendu d'un terroir et d'une année à l'autre, en fonction de la qualité de la vendange. Sa composition fine varie également au cours du vieillissement sur lies. Le tableau présente néanmoins la composition chimique moyenne d'un vin de Champagne jeune [9]. Le champagne diffère essentiellement de son vin de base par sa teneur en alcool légèrement plus importante (liée à la prise de mousse en bouteille), sa teneur souvent plus faible en protéines, sa teneur en sucres (apportés lors du dosage) et son contenu en CO_2 dissous qui fait de lui le plus renommé des vins effervescents.

Intéressons-nous aussi à la viscosité du champagne, qui aura des conséquences sur la vitesse des bulles et sur la cinétique d'échappement du gaz carbonique en dégustation. La viscosité de l'eau pure à 20 °C est de 1 mPa.s. Ce sont essentiellement l'éthanol, le sucre et le glycérol qui sont susceptibles d'augmenter la viscosité d'un champagne d'environ 50 % par rapport à celle de l'eau pure. Les différents vins effervescents produits autour du monde présentent des degrés alcooliques, des teneurs en glycérol et des dosages en sucres très variables, selon leur région d'origine et/ou leur mode d'élaboration. La viscosité d'un vin est donc logiquement d'autant plus élevée que sa teneur en alcool, en glycérol et en sucres est importante. La viscosité d'un liquide varie également de façon très significative avec sa température ; elle tend à diminuer lorsque sa température augmente. La variation de la viscosité d'un

	Vin de base	Champagne
Fortes concentrations		
Éthanol (% vol)	≈ 11	≈ 12,5
Glycérol (g.L ⁻¹)	≈ 5	≈ 5
Acide tartrique (g.L ⁻¹)	≈ 2,5 à 4	≈ 2,5 à 4
Acide lactique (g.L ⁻¹)	≈ 4	≈ 4
CO ₂ dissous (g.L ⁻¹)	< 1	≈ 11 à 12
Sucres (g.L ⁻¹)	≈ 0	0 à 50 (après dosage)
Faibles concentrations		
Protéines (mg.L ⁻¹)	5 à 50	≈ 5
Polysaccharides (mg.L ⁻¹)	≈ 200	> 200
Polyphénols (mg.L ⁻¹)	≈ 100	≈ 100
Acides aminés (mg.L ⁻¹)	0,8 à 2	0,8 à 2
Composés organiques volatils (mg.L ⁻¹)	≈ 700	≈ 700
Lipides (mg.L ⁻¹)	≈ 10	≈ 10
K ⁺ (mg.L ⁻¹)	200 à 450	200 à 450
Ca ²⁺ (mg.L ⁻¹)	60 à 120	60 à 120
Mg ²⁺ (mg.L ⁻¹)	50 à 90	50 à 90
SO ₄ ²⁻ (mg.L ⁻¹)	≈ 200	≈ 200
Cl ⁻ (mg.L ⁻¹)	≈ 10	≈ 10

Composition chimique moyenne du vin de base avant le tirage et du champagne correspondant en fin de prise de mousse. Les fourchettes de valeurs sont généralement préférées aux valeurs moyennes, car les écart-types sont souvent supérieurs à la moyenne [9].

champagne brut standard (Pommery, Marne) avec la température a été mesurée entre 5 et 15 °C [10]. La viscosité du champagne décroît exponentiellement avec la température selon une loi de type Arrhenius :

$$\eta(T) \approx 1,08 \times 10^{-7} \exp(2806/T) \quad (4)$$

où la viscosité η s'exprime en Pa.s et la température T s'exprime en degrés Kelvin (K).

Lorsque le bouchon saute

Lors du débouchage, le volume de gaz carbonique initialement sous pression dans le col de la bouteille se détend brutalement dans l'air ambiant et sa température chute alors de façon concomitante sous l'effet d'une détente adiabatique. Sur la *figure 6*, on peut voir la pression qui règne dans une bouteille de 75 cl (encore bouchée), ainsi que la température atteinte par le volume de gaz carbonique qui se détend, en fonction de la température de ladite bouteille. De façon assez contre-intuitive, le gaz détendu se refroidit à une température d'autant plus basse que la température du champagne est élevée. Les clichés de la *figure 7* illustrent les phénomènes qui surviennent au voisinage du bouchon qui saute, pour deux bouteilles stockées respectivement à 6 et 20 °C [11].

Pour mieux comprendre les phénomènes en jeu lors du débouchage, examinons le diagramme de phase du CO₂ qui apparaît sur la *figure 8*. Sous une pression de 1 bar, on constate que le CO₂ reste gazeux au-dessus d'une température de -78,5 °C. En dessous de cette température et sous 1 bar, le CO₂ existe sous sa forme solide (la glace carbonique). Pour la bouteille à 6 °C et sous 4,5 bars, le nuage de gaz carbonique qui se détend voit sa température chuter à -77 °C. Il ne fait donc pas encore assez froid pour que le CO₂ gazeux change de phase. Cependant, en se détendant, le nuage de CO₂ refroidit l'air ambiant et la vapeur d'eau qu'il contient. Celle-ci se condense alors en un brouillard de gouttelettes micrométriques qui diffusent la lumière ambiante, conférant ainsi au panache de condensation une teinte blanchâtre

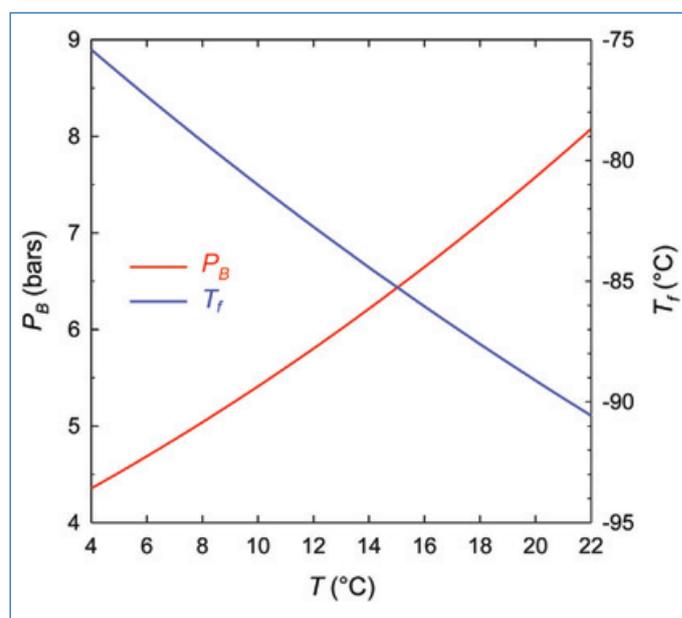


Figure 6 - Pression partielle P_B de CO₂ qui règne dans la bouteille encore bouchée (en rouge) et température T_f atteinte par le nuage de gaz carbonique qui se détend lorsque le bouchon saute (en bleu), en fonction de la température initiale T de la bouteille. (© Équipe Effervescence).

caractéristique de la diffusion de Mie. Dans le cas de la bouteille à 20 °C et sous presque 8 bars, le nuage de gaz carbonique détendu voit sa température chuter à -89 °C, dans la zone du diagramme de phase où le CO₂ existe sous sa forme solide. Le nuage bleu azur qui accompagne le débouchage des bouteilles à 20 °C serait la signature de la transformation des vapeurs de CO₂ en cristaux de neige carbonique. Ces cristaux, largement submicrométriques, diffuseraient alors la lumière ambiante préférentiellement dans les petites longueurs d'onde du spectre visible (et donc vers le bleu), selon le régime dit de Rayleigh, faisant ainsi apparaître un nuage de condensation bleu azur.



Figure 7 - Observation des phénomènes qui accompagnent le débouchage de deux bouteilles stockées respectivement à 6 °C (a) et à 20 °C (b) à l'aide d'une caméra rapide (Phantom Flex/ Vision Research, E.-U.). Les deux clichés ont été pris 1,2 ms après l'éjection du bouchon. (© Équipe Effervescence).

Le service du champagne

Une fois la bouteille débouchée, le champagne se retrouve à la pression ambiante de 1 bar. Le CO_2 dissous doit inexorablement s'en échapper pour rétablir son équilibre thermodynamique vis-à-vis du gaz carbonique contenu dans l'air ambiant (dont la pression partielle n'est que de 0,4 mbar). Le vin devient largement sursaturé en gaz carbonique.

Lorsque vous inclinez la bouteille au moment du service, le champagne s'écoule hors du goulot sous l'action de la gravité et envahit progressivement la flûte. Cette mise en mouvement du champagne lors du service génère de fortes turbulences, qui accélèrent l'échappement du gaz carbonique hors du champagne (par diffusion moléculaire). Il a été démontré que pendant les quelques secondes du service, le champagne perd jusqu'à 40 % du CO_2 dissous qu'il contenait lorsqu'il était encore dans la bouteille close [12]. De fait, une fois le champagne servi dans une flûte, le dégustateur porte en bouche un champagne appauvri en CO_2 dissous. Sa concentration n'est plus du tout de l'ordre de $11,5 \text{ g.L}^{-1}$ (s'il s'agit d'un champagne jeune tiré à 24 g.L^{-1} de sucre), mais plutôt de l'ordre de 6 à 9 g.L^{-1} selon la température du champagne et la forme du verre [12-13]. En filmant le service du champagne à l'aide d'une caméra infrarouge munie d'un filtre passe-bande externe centré sur la raie d'absorption du CO_2 à $4,245 \mu\text{m}$, il devient possible de visualiser les volutes de gaz carbonique qui s'en échappent [14] (figure 9). On remarque que ce gaz carbonique, nettement plus dense que l'air, s'écoule le long des parois du verre.

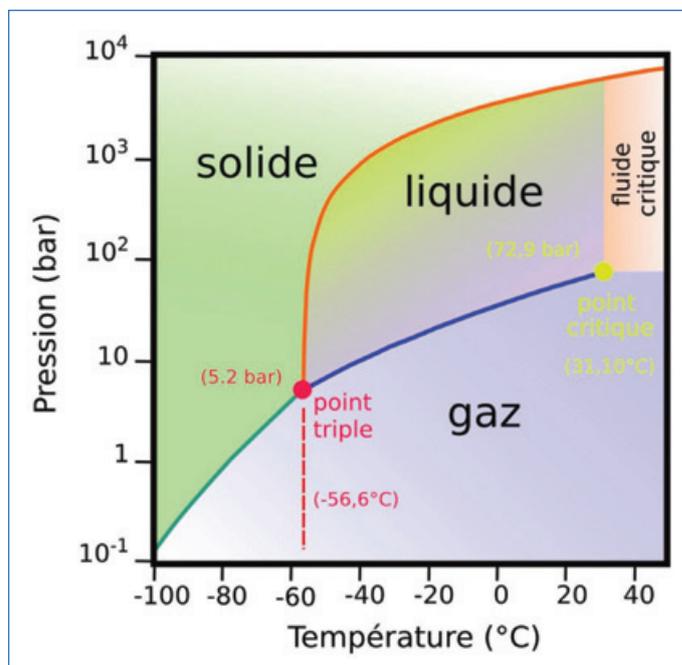


Figure 8 - Diagramme de phase pression-température du CO_2 . (© Équipe Effervescence).

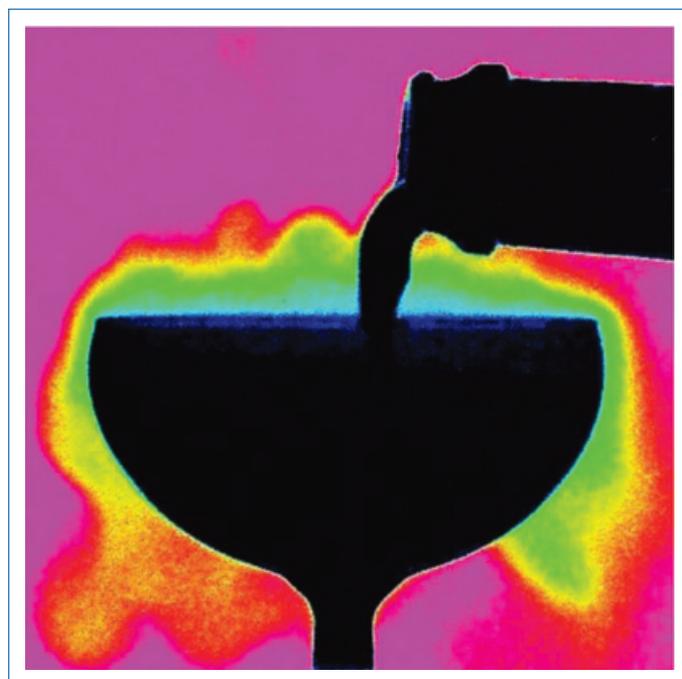


Figure 9 - Les vapeurs de CO_2 qui s'échappent massivement du champagne lors du service apparaissent si on filme la scène à l'aide d'une caméra infrarouge (FLIR SC7000) additionnée d'un filtre passe-bande externe centré sur la raie d'absorption du CO_2 à $4,245 \mu\text{m}$. (© Équipe Effervescence/GRESPI).

La nucléation des bulles dans une flûte

Une fois le champagne servi dans la flûte, le CO_2 dissous continue de s'en échapper inexorablement. La surface libre du champagne constitue bien entendu une échappatoire idéale pour le gaz carbonique dissous qui doit rejoindre l'atmosphère. Ce dégazage par diffusion à travers la surface libre est absolument invisible à l'œil nu mais demeure très important en quantité. D'une manière générale, plus la surface du contenant est grande et plus cette voie de dégazage sera importante. Il a été montré que dans une flûte plutôt étroite et présentant une effervescence « classique », environ 80 %

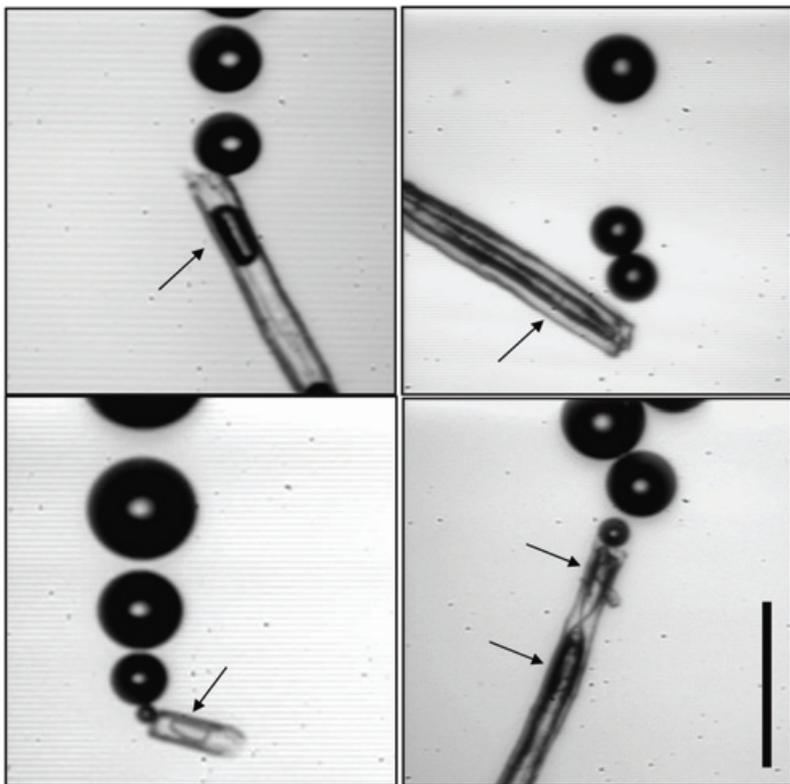


Figure 10 - Les bulles naissent par nucléation hétérogène dite « non classique », à partir de germes gazeux (pointés par des flèches) piégés dans de minuscules particules accrochées à la surface du verre (barre = 100 μm). (Gérard Liger-Belair, DR).

croissance des bulles en cours d'ascension est due à la diffusion des molécules de gaz carbonique dissous, du vin (riche en CO_2 dissous) vers la couche limite (pauvre en CO_2 dissous) qui entoure les bulles [15]. Les bulles vont donc progressivement grossir et accélérer au cours de leur ascension, puisque la poussée d'Archimède ressentie par une bulle est directement proportionnelle à son propre volume. Or, puisque les bulles sont émises de façon répétitive à partir de ces petites particules, il en résulte des petits trains de bulles verticaux, très caractéristiques de la dégustation du champagne et des vins effervescents (figure 11).

Un aérosol de gouttelettes chargées d'arômes

Au cours d'une dégustation de champagne, qui ne dure généralement que quelques minutes, des dizaines de milliers de bulles rejoignent la surface où elles éclatent, libérant ainsi le gaz carbonique et les molécules aromatiques volatiles dont elles se sont chargées pendant leur ascension dans la flûte. Mais leur action ne s'arrête pas là. En éclatant, chaque petite bulle projette également un mince filet de champagne susceptible de catapulter de minuscules gouttelettes plusieurs centimètres au-dessus de la surface du verre [19]. Voilà l'origine du pétilllement

du gaz carbonique dissous s'échappent par la surface du champagne, contre grosso modo 20 % qui s'échappent sous forme de bulles [15].

La théorie de la nucléation nous apprend que des bulles ne peuvent se former et croître librement dans un liquide sursaturé en gaz dissous comme le champagne, que si et seulement si des germes gazeux dont le rayon dépasse une valeur minimale (dite critique) préexistent au cœur du fluide. Les physiciens parlent d'un processus de « nucléation hétérogène non classique de bulles » [16]. Dans le cas d'un champagne fraîchement servi, ce rayon critique est de l'ordre de 0,3 μm [15]. Dans la majorité des cas, les germes gazeux qui jouent le rôle de site de nucléation sont piégés dans des structures tubulaires creuses, longues de quelques dizaines de micromètres et dont l'ouverture est de quelques micromètres seulement [15, 17]. Il s'agit le plus souvent de fibres de cellulose, en suspension dans l'air ou bien abandonnées par le chiffon destiné à essuyer le verre et qui se sont déposées à sa surface (figure 10). Avant de se retrouver immergées dans le champagne, ces petites fibres de cellulose baignaient dans l'air ambiant. Une fois immergées dans le champagne, les propriétés géométriques et physiques de ces fibres creuses leur permettent de conserver en leur sein une ou plusieurs poches d'air, conformément au modèle décrit [18]. Ces minuscules poches d'air seront donc autant d'échappatoires dans lesquelles le CO_2 dissous pourra migrer, toujours par diffusion moléculaire, fuyant ainsi le champagne pour rejoindre l'atmosphère sous forme de bulles.

Une fois détachée du germe gazeux qui lui a donné naissance, la bulle de champagne est encore invisible à l'œil nu. Sous l'effet de la poussée d'Archimède, la bulle entame alors son ascension vers la surface. L'observation attentive à l'œil nu nous enseigne que les bulles grossissent pendant leur parcours vers la surface du champagne. Là encore, cette

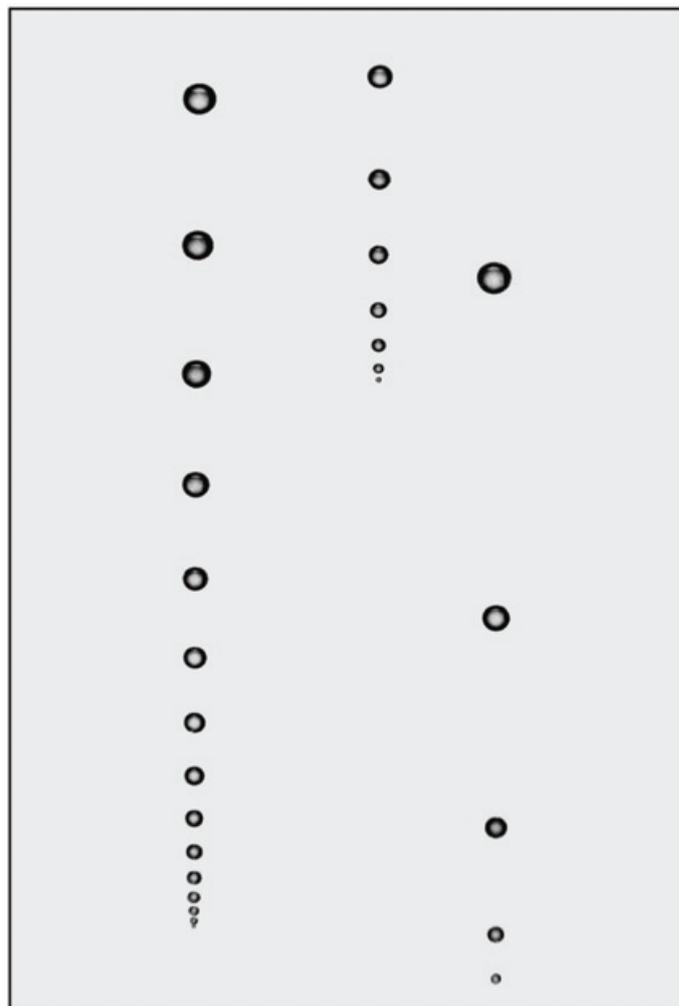


Figure 11 - Trois trains de bulles qui grossissent et accélèrent en remontant le long des parois d'une flûte de champagne. (Gérard Liger-Belair, DR).

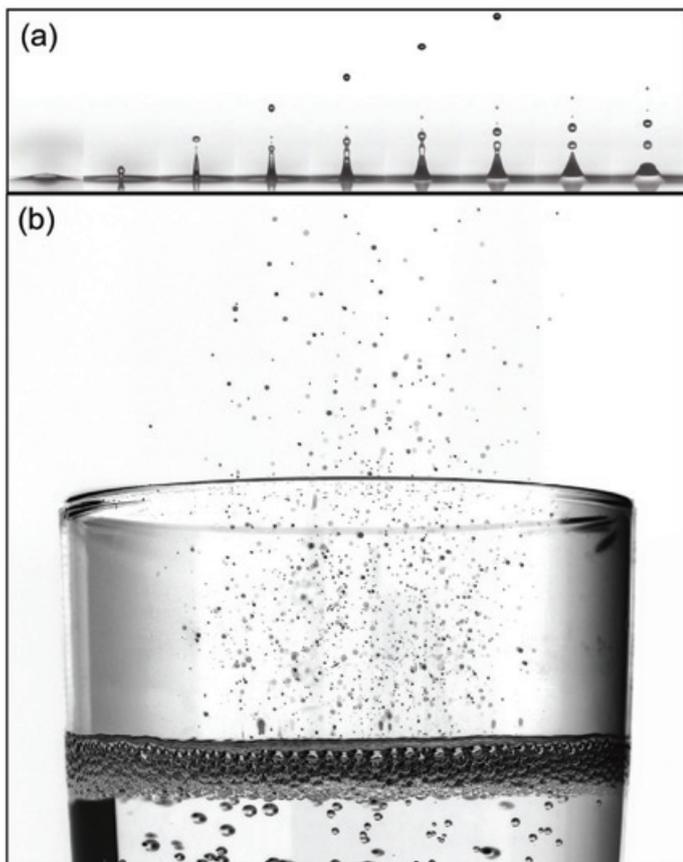


Figure 12 - Les bulles qui éclatent à la surface d'une flûte catapultent de minuscules gouttelettes au-dessus de la surface du verre (a), créant ainsi un aérosol de champagne qui participe à l'exhalation des arômes du vin (b). (Elisabeth Ghabache/Collection CIVC, DR).

très caractéristique qui accompagne la dégustation du champagne et des vins effervescents, comme illustré sur les clichés de la *figure 12*. Ghabache *et al.* [20], puis Berny *et al.* [21], ont montré que ces myriades de gouttelettes qui jaillissent à haute vitesse au-dessus de la surface du verre s'évaporent en partie, permettant ainsi une libération encore bien plus efficace des arômes d'un vin effervescent. Il semblerait que cet aérosol de champagne soit susceptible d'évaporer à lui seul environ dix fois plus de liquide (et donc de molécules volatiles) que la surface du disque de champagne dans la flûte [22]. Or, la cinétique d'évaporation des molécules volatiles – via la surface cumulée offerte par ces myriades de gouttelettes qui jaillissent au-dessus de la surface libre du champagne – dépend directement de leurs volatilités, mais aussi de leurs coefficients de diffusion respectifs. Il conviendrait donc de déterminer ces coefficients de diffusion, à commencer par celui de l'éthanol (la substance volatile ultra majoritaire), afin de quantifier aussi finement que possible l'évaporation des arômes d'un vin effervescent par cet aérosol de gouttelettes.

⁽¹⁾ Il est important de préciser que dans l'éq. 3, chaque paramètre s'exprime dans son unité internationale; ainsi la température s'exprime en degrés Kelvin (K), les volumes de

champagne et de ciel gazeux s'expriment en m^3 et la constante de Henry du CO_2 s'exprime en $mol\ m^{-3}\ Pa^{-1}$.

- [1] G. Liger-Belair, *Un monde de bulles : le champagne ou la science de l'effervescence*, Ellipses, 2020.
- [2] G. Liger-Belair, The physics and chemistry behind the bubbling properties of champagne and sparkling wines: a state-of-the-art review, *J. Agric. Food Chem.*, **2005**, 53, p. 2788-2802.
- [3] G. Liger-Belair, C. Cilindre, Recent progress in the analytical chemistry of champagne and sparkling wines, *Annu. Rev. Anal. Chem.*, **2021**, 14, p. 21-46.
- [4] H. Alexandre, M. Guilloux-Benatier, Yeast autolysis in sparkling wines: a review, *Aust. J. Grape Wine Res.*, **2006**, 12, p. 119-127.
- [5] H. Alexandre, Yeasts and sparkling wine production, In *Yeasts in the Production of Wine*, Springer, New York, **2019**, p. 395-432.
- [6] G. Liger-Belair, D. Carvajal-Perez, C. Cilindre, J. Facque, M. Brevet *et al.*, Evidence for moderate losses of dissolved CO_2 during aging on lees of a champagne prestige cuvee, *J. Food Eng.*, **2018**, 233, p. 40-48.
- [7] B. Duteurtre, *Le champagne : de la tradition à la science*, Lavoisier, **2016**.
- [8] G. Liger-Belair, R. Gougeon, P. Schmitt-Kopplin, Champagne : l'arôme au cœur des bulles, *Pour la Science*, **2010**, 398, p. 34-38.
- [9] A. Dussaud, Étude des propriétés de surface statiques et dynamiques de solutions alcooliques de protéines : application à la stabilité des mousses de boissons alcoolisées, PhD Thesis, ENSIAA, Massy, **1993**.
- [10] G. Liger-Belair, M. Parmentier, P. Jeandet, Modeling the kinetics of bubble nucleation in champagne and carbonated beverages, *J. Phys. Chem. B*, **2006**, 110, p. 21145-151.
- [11] G. Liger-Belair, D. Cordier, J. Honvault, C. Cilindre, Unveiling CO_2 heterogeneous freezing plumes during champagne cork popping, *Sci. Rep.*, **2017**, 7, 10938.
- [12] G. Liger-Belair, M. Bourget, S. Villaume, J. Jeandet, H. Pron *et al.*, On the losses of dissolved CO_2 during champagne serving, *J. Agric. Food Chem.*, **2010**, 58, p. 8768-75.
- [13] G. Liger-Belair, A. Conreux, S. Villaume, C. Cilindre, Monitoring the losses of dissolved carbon dioxide from laser-etched champagne glasses, *Food Res. Int.*, **2013**, 54, p. 516-522.
- [14] M. Bourget, G. Liger-Belair, H. Pron, G. Polidori, Unraveling the release of gaseous CO_2 during champagne serving through high-speed infrared imaging, *J. of Visualization*, **2013**, 16, p. 47-52.
- [15] G. Liger-Belair, La physique des bulles de champagne, *Ann. Phys. (Paris)*, **2002**, 27, p. 1-106.
- [16] S.F. Jones, G.M. Evans, K.P. Galvin, Bubble nucleation from gas cavities: a review, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **1999**, 80, p. 27-50.
- [17] P. Lehuédé, B. Robillard, Le champagne dans la flûte, *Pour la Science*, **1996**, 229, 14.
- [18] G. Liger-Belair, C. Voisin, P. Jeandet, Modeling non-classical heterogeneous bubble nucleation from cellulose fibers: application to bubbling in carbonated beverages, *J. Phys. Chem. B*, **2005**, 109, p. 14573-580.
- [19] G. Liger-Belair, C. Cilindre, R. Gougeon, M. Lucio, I. Gebefügi *et al.*, Unraveling different chemical fingerprints between a champagne wine and its aerosols, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2009**, 106, p. 16545-549.
- [20] E. Ghabache, G. Liger-Belair, A. Antkowiak, T. Séon, Evaporation of droplets in a Champagne wine aerosol, *Sci. Rep.*, **2016**, 6, 25148.
- [21] A. Berny, L. Deike, T. Séon, S. Popinet, Role of all jet drops in mass transfer from bursting bubbles, *Phys. Rev. Fluids*, **2020**, 5, 033605.
- [22] T. Séon, G. Liger-Belair, Effervescence in champagne and sparkling wines: from bubble bursting to droplets evaporation, *Eur. Phys. J. Special Topics*, **2017**, 226, p. 117-156.

Gérard LIGER-BELAIR,

Professeur, Équipe Effervescence, Champagne et Applications (GSMA), UMR CNRS 7331, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims.

* gerard.liger-belair@univ-reims.fr



Détermination des arômes d'une eau-de-vie de Cognac

Résumé Les eaux-de-vie de Cognac sont un mélange riche et complexe de multiples arômes. Le Pôle Technique et Développement Durable du BNIC travaille depuis de nombreuses années à leur identification et à l'évaluation de leurs impacts sur les eaux-de-vie nouvelles. Ainsi, quatre-vingts zones olfactives sont détectées et soixante-six molécules sont identifiées par analyse olfactométrique. De plus, différentes techniques d'analyses permettent de quantifier ou semi-quantifier soixante d'entre elles. La détermination de l'OAV (« odour activity value ») pour ces composés montrent que vingt-neuf d'entre eux ont un impact potentiel sur l'arôme des eaux-de-vie nouvelles de Cognac. Le lien entre ces arômes et le processus de production d'eau-de-vie est très complexe mais certains éléments sont déjà établis. Ces travaux se poursuivent en complément de la dégustation par des professionnels de la filière pour appréhender la richesse de ce produit d'exception.

Mots-clés Eau-de-vie, Cognac, arômes, olfactométrie, zones olfactives, OAV, procédé.

Abstract Determination of Cognac eau-de-vie aromas

Cognac eau-de-vie is a rich and complex blend of multiple aromas. The Technical and Sustainable Development Department of the BNIC has been working for many years to identify it and assess their impacts on freshly distilled spirits. Thus, eighty olfactory zones have been detected and sixty-six molecules have been identified by olfactometry analysis. Moreover, different analysis techniques allow them to quantify or semi-quantify sixty of them. Determining the OAV (« odour activity value ») for these compounds shows that twenty-nine of them have a potential impact on the aroma of freshly distilled Cognac. The link between these aromas and the production process is very complex, but some facts have already been established. This work continues in addition to the tasting by professionals of the sector to understand the richness of this exceptional product.

Keywords Distilled spirit, Cognac, aromas, olfactometry, olfactory zones, OAV, process.

Une eau-de-vie de Cognac, issue de la distillation charentaise, se compose d'environ 72 % d'alcool (éthanol), 27 % d'eau, et moins de 1 % de composés volatils responsables de son arôme et de son évolution à venir. La composition de l'eau-de-vie en substances volatiles est donc un sujet de grande importance, qui a fait l'objet de nombreuses études. La complexité des arômes du Cognac étant tellement importante, nous nous limiterons ici à présenter nos travaux sur les eaux-de-vie nouvelles de Cognac, c'est-à-dire les eaux-de-vie à la sortie de l'alambic qui n'ont pas encore été stockées dans un fût pour entamer leur vieillissement avec tous les processus associés.

La fraction « non-alcool » d'une eau-de-vie nouvelle (c'est-à-dire tous les constituants autres que l'eau, l'éthanol et le méthanol) doit être supérieure à 125 g/hl d'alcool pur, qui est le minimum fixé par la réglementation européenne pour les eaux-de-vie de vin (Règlement (UE) 2019/787 du 17 avril 2019). Dans les eaux-de-vie de Cognac, elle est en général beaucoup plus élevée. Le cahier des charges Cognac garantit d'ailleurs une concentration dans le produit fini supérieure à 200 g/hl d'alcool pur. Cette fraction est composée de plusieurs dizaines, voire plusieurs centaines de composés, dont l'impact sensoriel est plus ou moins important.

Histoire de l'analyse des eaux-de-vie de Cognac

En 1900, Louis Ravaz, premier directeur de la Station Viticole de Cognac, expliquait que « l'alcool éthylique ou alcool de vin est la substance dominante [...]. Mais s'il forme le corps de l'eau-de-vie, il ne lui donne aucune qualité. Ses qualités sont dues à toutes les autres substances fixes [...] et surtout volatiles qui accompagnent l'alcool éthylique dans la distillation. Ce sont elles

qui donnent le moelleux, l'arôme et le bouquet. [...] Et comme la plupart d'entre elles sont en quantité impondérable dans le mélange, on voit combien la plus petite modification dans leur proportion peut modifier profondément la qualité de l'eau-de-vie. Et dès lors, l'influence du terrain, du climat, du cépage, de la distillation..., sur la qualité des produits s'explique facilement; un rien peut changer du tout au tout un produit aussi complexe que l'eau-de-vie de Cognac » [1].

Cette compréhension, remarquable au regard des connaissances disponibles à l'époque, a progressé tout au long du XX^e siècle avec l'évolution des techniques analytiques.

En 1967, Jean Lafon, également directeur de la Station Viticole du BNIC, présentait ainsi les résultats des premières études analytiques d'eaux-de-vie de Cognac par chromatographie en phase gazeuse : « Nous avons pu chromatographier plus de 500 eaux-de-vie de types différents [...]. La dégustation de divers constituants a montré que la présence de chacun d'eux est utile pour la qualité. Il existe cependant des teneurs limites de certains constituants, que l'on ne peut dépasser sans détruire l'harmonie de l'eau-de-vie [...]. La présence d'au moins 80 constituants dans le Cognac permet d'envisager des combinaisons infinies ».

Roger Cantagrel, directeur de la Station Viticole du BNIC entre 1986 et 2006, a pour sa part fait considérablement progresser la caractérisation analytique des eaux-de-vie de Cognac. Les recherches menées sous sa direction ont notamment permis de montrer l'importance de la qualité du raisin, de la vinification, de la distillation et du vieillissement dans la qualité aromatique des eaux-de-vie [2]. Il a également contribué à mettre au point des techniques analytiques, aujourd'hui largement utilisées et reconnues au niveau international, notamment par l'Organisation internationale de la vigne et du vin (OIV).

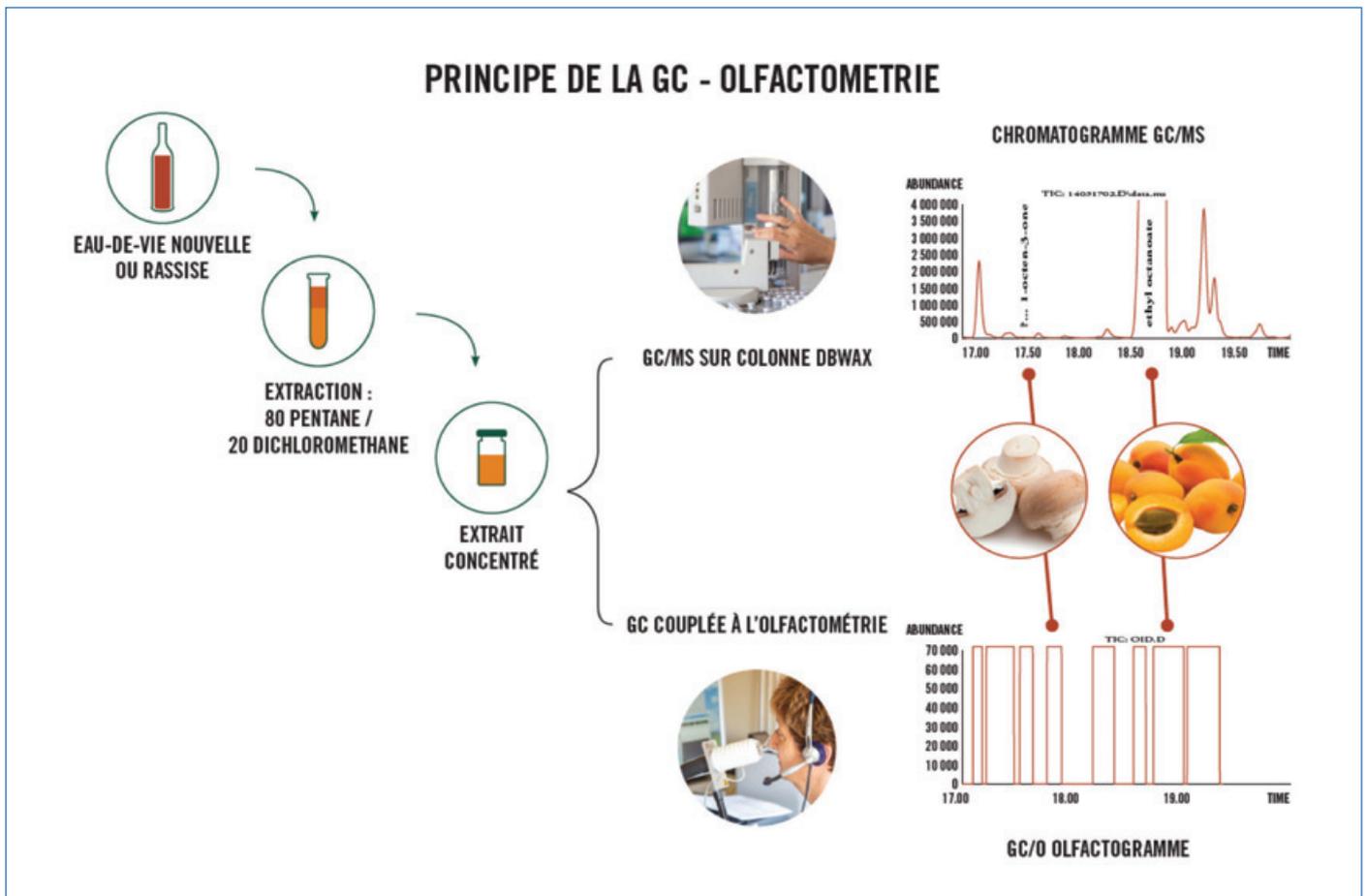


Figure 1 - Principe de l'analyse couplée chromatographie en phase gazeuse/olfactométrie (GC/O). Le nez humain est parfois plus sensible que les détecteurs analytiques.

Détection et identification des composés de l'arôme

Pour connaître la composition aromatique d'un Cognac, la première partie du travail consiste à détecter les molécules aromatiques présentes dans une eau-de-vie. Pour cela, nous possédons depuis de nombreuses années un outil indispensable : l'olfactométrie (figure 1).

Le principe général de l'olfactométrie est de coupler la capacité séparative de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) avec la sensibilité olfactive du nez humain. Comme pour d'autres analyses réalisées en CPG, le volume injecté est de l'ordre du μl . Pour avoir une réponse satisfaisante, une étape préalable d'extraction et de concentration des substances volatiles des eaux-de-vie est donc nécessaire.

Les composés d'arôme, entraînés par un gaz vecteur (généralement de l'hélium), transitent plus ou moins vite, selon leur taille et leurs caractéristiques physico-chimiques, dans une colonne capillaire dont ils sortent successivement. En sortie de colonne, le flux du gaz vecteur est divisé en deux. Une partie est dirigée vers le détecteur (spectromètre de masse) et l'autre vers un port d'olfaction, qui permet à un opérateur de détecter les notes aromatiques. Cet « olfacteur », formé à cette technique, enregistre ces « zones » au cours du temps, les décrit et précise si possible leur intensité.

Nous retrouvons dans cet exercice de nombreux points communs avec la dégustation : une exigence de fiabilité/répétabilité, une plus ou moins grande sensibilité individuelle aux différentes odeurs (anosmie...), mais également la nécessité de rester concentré environ 45 minutes, durée de l'analyse. Cet exercice nécessite donc un entraînement et une pratique soutenus.

Actuellement, quatre-vingts zones ont été détectées dans les eaux-de-vie de Cognac.

La seconde partie du travail est d'identifier les composés responsables des zones olfactives détectées. Dans un premier temps, nous nous sommes appuyés sur la détection instrumentale en spectrométrie de masse. Depuis quelques années, des zones détectées par l'olfacteur correspondent à une absence de signal sur le spectromètre de masse (figure 1), ceci laisse supposer que les capacités d'analyse actuelle ne nous permettent pas de les détecter. Dans ce cas, des données bibliographiques peuvent nous aider à réaliser leur identification par similarité avec leur typologie sensorielle.

Cet ensemble de zones peut être considéré comme la carte olfactométrique caractéristique des eaux-de-vie nouvelles [3-4] (voir tableau) car la plupart de ces zones sont présentes dans toutes les eaux-de-vie nouvelles, même si quelques-unes le sont de façon moins systématique. Cette carte est liée aux conditions opératoires (préparation d'échantillons, type de colonne chromatographique, olfacteurs...) et elle s'enrichit au fur et à mesure des connaissances.

L'importance relative de ces différentes zones (ou molécules liées) crée donc des différences de perception qui rendent chaque eau-de-vie de Cognac unique.

L'ensemble de ces travaux permet aujourd'hui d'identifier soixante-six composés parmi les quatre-vingts zones olfactives.

L'étude de l'arôme de l'eau-de-vie nouvelle est complexe. Pour chacun des composés séparés, l'intensité olfactive perçue par l'opérateur en sortie de colonne chromatographique ne présume pas de leur impact sensoriel potentiel

IR DBwax ODP	Zones olfactives	Composés identifiés responsables de la zone
1000	solvant, terreux, géranium	
1030	kiwi, fruité, acidulé	butanoate d'éthyle
1050	géranium, terreux	
1060	kiwi, fruité, acidulé	2-méthylbutanoate d'éthyle
1070	solvant, terreux, géranium	
1075	kiwi, fruité, acidulé	3-méthylbutanoate d'éthyle
1105	solvant, plastique	1-hexen-3-one
1120	banane	acétate d'isoamyle
1190	vert gras	
1195	solvant, chocolat	isopentanol
1240	fraise, anis	hexanoate d'éthyle
1255	(vert gras mastic)	
1280	(fruité banane)	acétate d'hexyle
1305	champignon	1-octen-3-one
1320	(vert, gras, sucré, praline)	2-méthyl-3-furanthiol
1350	vert frais, floral, mimosa	hexan-1-ol
1360	vert floral, rose	cis oxyde de rose
1375	vert gras	trisulfure de diméthyle
1380	vert, feuille, herbe	(Z)-3-hexen-1-ol
1390	vert gras	
1395	vert floral	

Extrait de la carte olfactive des eaux-de-vie de Cognac établie sur colonne DBWax avec détecteur ODP (« olfactory detection port »). Zones olfactives « () » lorsqu'elles ne sont pas détectées systématiquement dans l'eau-de-vie.

dans l'eau-de-vie nouvelle. En effet, le composé est perçu seul, sans éthanol et en l'absence de tous les autres composés de l'eau-de-vie nouvelle.

Aussi, pour aider à évaluer l'impact sensoriel d'un composé, des étapes complémentaires de quantification et d'analyse sensorielle sont nécessaires.

Quantification des composés identifiés

Le laboratoire réalise ainsi les analyses sur ces molécules cibles dans les eaux-de-vie nouvelles (teneurs moyennes, dispersions...). Les composés majeurs étant connus depuis de nombreuses années, les dernières molécules détectées le sont à l'état de trace et leur dosage nécessite des techniques analytiques adaptées permettant de descendre à des niveaux de concentrations très faibles de l'ordre de quelques dizaines de ng/l, soit moins d'un morceau de sucre dans une piscine olympique !

Actuellement, plusieurs méthodes de dosage sont nécessaires afin d'analyser l'ensemble des molécules identifiées. Elles sont toutes réalisées par chromatographie en phase gazeuse et nécessitent la plupart du temps des étapes de concentration d'échantillons :

- Analyse par injection directe : cette analyse permet de doser les composés volatils les plus abondants, dont la teneur est supérieure à 0,5 mg/l. Elle constitue un outil de caractérisation des spiritueux, mais aussi de contrôle qualitatif des eaux-de-vie, dont l'utilisation s'est fortement développée au cours des vingt-cinq dernières années. Ces composés volatils majoritaires ont pour origine les étapes clés du processus d'élaboration.

- Extraction par différents solvants avec ou sans concentration, détection par ionisation de flamme (FID) ou spectrométrie de masse (MS).

- Dérivation, extraction, concentration et analyse en CPG/MS pour les composés carbonylés.

- Analyse en CPG/MS/MS pour les plus basses concentrations pour le 3-méthyl-2,4-nonanedione ou le 2-méthyl-3-(méthyl-dithio)furane.

Parmi les soixante-six composés responsables de zones olfactives identifiées, soixante d'entre eux peuvent actuellement être quantifiés ou semi-quantifiés. Les autres composés étant seulement à l'état de trace, ils ne sont pas quantifiables avec les méthodes actuelles.

La quantification des composés doit être complétée par la détermination des seuils de détection par le nez humain dans une eau-de-vie afin de connaître leur impact sur l'arôme perçu.

Détermination des seuils de détection olfactive et impact sur l'eau-de-vie

Le seuil de perception olfactive pour un composé est la concentration minimale au-dessous de laquelle 50 % d'un panel de dégustateurs ne font plus la différence avec une solution témoin. De nombreux travaux publient des seuils olfactifs dans l'eau mais très peu font référence à ceux mesurés dans une solution hydroalcoolique à 40 % vol., très souvent bien supérieurs à ceux déterminés dans l'eau.

Un panel interne au Pôle Technique et Développement Durable du BNIC a permis d'établir, à ce jour, 51 seuils de perceptions à 40 % vol. (selon la norme ISO 13301:2002).

Ces seuils ont été complétés par quelques seuils bibliographiques à 40 % vol.

Une très grande variabilité existe en fonction des molécules. Par exemple, le seuil du 2-méthyl-3-(méthylthio)furane a été déterminé à 0,004 µg/l, celui du trans-3-hexen-1-ol à 47 600 µg/l. Cela signifie que le 2-méthyl-3-(méthylthio)furane est dix millions de fois plus puissant aromatiquement que le trans-3-hexen-1-ol.

Une fois le seuil olfactif et la concentration de la molécule dans l'eau-de-vie obtenus, les calculs des OAV (« odour activity value ») peuvent être réalisés. Cet indicateur se calcule par le ratio entre la concentration du composé et son seuil olfactif. Il va permettre de distinguer l'impact de chaque composé sur l'arôme de l'eau-de-vie : un composé ayant un OAV supérieur à 1 peut avoir un impact sensoriel direct et joue un rôle important dans l'arôme global ; il correspond à un composé clé et participe au « squelette sensoriel » de l'eau-de-vie nouvelle. Cependant, la perception totale n'est pas la somme des perceptions des composés pris individuellement. Ainsi, des composés ayant des OAV individuels inférieurs à 1 pourraient moduler la perception aromatique par des effets d'additivité, de synergie entre les molécules odorantes ou des phénomènes de masquage ; de la même manière que ce qui a été observé sur vin rouge [5]. Il est possible de citer, par exemple, les composés produits par certaines souches de levure comme le 2-phényléthanol et différents composés reliés 2-phénylacétate d'éthyle, acétate de 2-phényléthyle et autres esters de 2-phényléthyl (butanoate, hexanoate, octanoate...). Ces composés possèdent tous des notes florales, de rose, mais aussi un caractère vineux, rose fanée, caractéristiques qui vont s'additionner.

Parmi tous les composés identifiés, un nombre relativement limité est susceptible d'avoir un impact aromatique individuel directement perceptible, leurs notes aromatiques caractéristiques peuvent alors être perçues et identifiées à la dégustation. Dans ce cas, la présence de la molécule, à une concentration supérieure au seuil de différenciation, marque l'arôme de l'eau-de-vie. Ce sont souvent des composés non souhaités ou présentant des notes atypiques de l'eau-de-vie dont nous pouvons citer deux exemples :

- la présence de hex-1-en-3-one, dont la note « vert, plastique », semble pouvoir être mise en relation avec d'importantes altérations des raisins juste avant les vendanges (comme la grêle) ;
- la présence de certains composés peut également correspondre à la recherche d'une typicité particulière, comme l'acétate d'isoamyle (note fruitée amylique, banane), dont la teneur est très liée aux conditions fermentaires du vin.

Actuellement, vingt-neuf composés qui présentent des OAV moyens supérieurs à 1 ont été identifiés dans les eaux-de-vie nouvelles. Neuf composés supplémentaires pourraient également atteindre cette valeur lorsqu'ils sont à fortes teneurs dans les échantillons.

Des composés reliés à leur origine

L'identification des composés responsables des différentes zones olfactives permet également de les relier à leur origine sur la base de leurs mécanismes de formation décrits dans la littérature ou observés dans le cadre des programmes expérimentaux menés par le Pôle Technique et Développement Durable du BNIC.

Aujourd'hui, pour l'ensemble des composés décrits, il existe trois origines majeures :

- la matière première : composition du raisin et son évolution au cours de la maturation et de l'extraction des goûts ;
- la vinification : processus fermentaire, alcoolique et malolactique, conservation des vins
- la distillation : composés néoformés ou révélés ou éliminés pendant l'étape de distillation.

Cependant, dans de nombreux cas, l'origine d'un composé résulte de la combinaison de deux ou trois phases du processus de production.

Les notes aromatiques issues du raisin

Elles représentent environ 40 % des zones identifiées à ce jour (figure 2). Ce sont principalement des notes florales, fruitées et végétales, dont les composés responsables sont notamment :

- Les terpènes, comme le linalol, le β -citronellol ou l'oxyde de rose, connus pour leurs notes florales/fruitées. Certains composés permettent de différencier les cépages, dont certains comme la folle blanche ou le folignan sont plus pourvus que l'Ugni blanc.
- Les C13-norisoprénoides, révélés lors des étapes de fermentation ou de distillation à partir de précurseurs inodores, sont des composés aromatiques très puissants. Ils comprennent la (E)- β -damascénone (note fruitée, compote de pomme), la β -ionone et le 1-(2,3,6-triméthylphényl)-buten-3-one-2 (odeur de violette) ou le 1,1,6-triméthyl-1,2-dihydronaphthalène (TDN) [6].
- Les alcools en C6, tels que l'hexane-1-ol sont responsables de notes « vertes ». Ces composés diminuent en général avec la maturité du raisin.

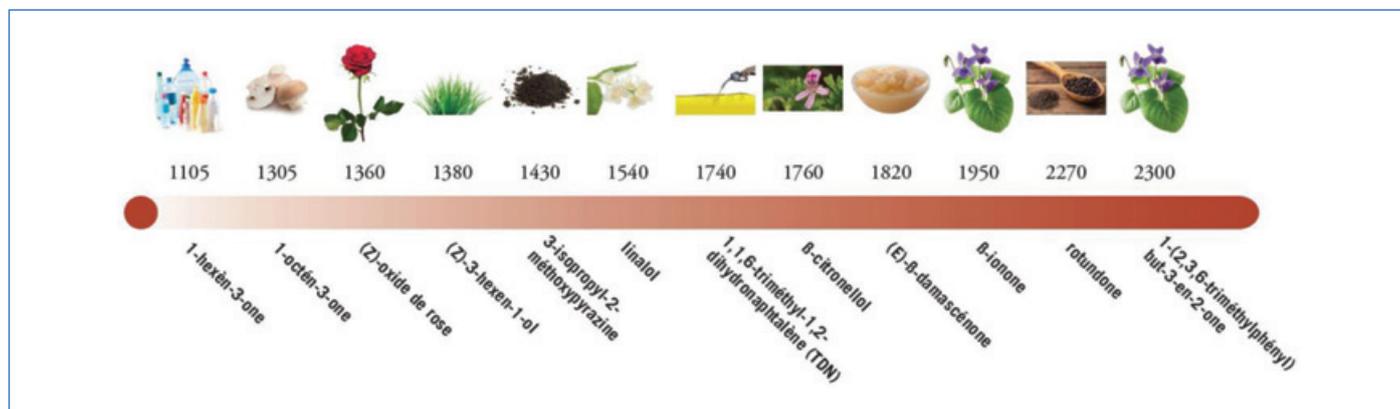


Figure 2 - Représentation de quelques molécules olfactives présentes dans les eaux-de-vie de Cognac en lien avec la matière première, en fonction de leur temps de rétention sur colonne apolaire.



Figure 3 - Représentation de quelques molécules olfactives présentes dans les eaux-de-vie de Cognac en lien avec la vinification, en fonction de leur temps de rétention sur colonne apolaire.

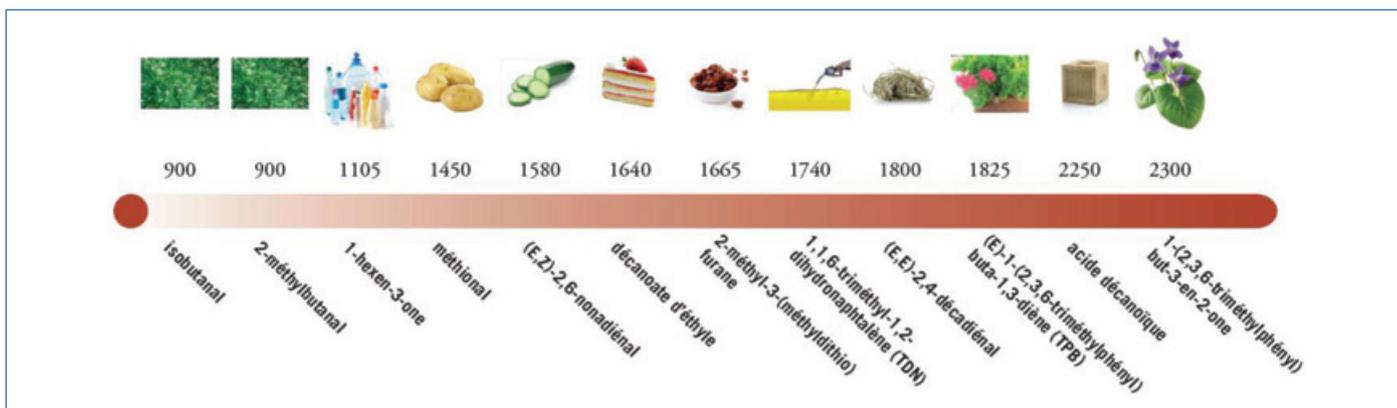


Figure 4 - Représentation de quelques molécules olfactives présentes dans les eaux-de-vie de Cognac en lien avec la distillation, en fonction de leur temps de rétention sur colonne apolaire.

- Les composés phénoliques peuvent également apporter des notes épicées comme le 4-éthylgâïacol (laurier), l'eugénol (clou de girofle) ou le 4-vinylgâïacol (épicé, curry).

- D'autres composés, récemment identifiés, peuvent également être présents comme la 1-(2,3,6-triméthylphényl)-buten-3-one-2 (floral, violette), le (Z)-oxyde de rose (floral, rose) et la rotundone, un sesquiterpène responsable d'une note de type épice poivre noir.

Les notes fermentaires et post-fermentaires

Elles sont aussi nombreuses que celles d'origine raisin. Elles représentent environ 40 % des zones identifiées (figure 3). Les composés responsables sont généralement présents à des concentrations plus importantes, mais possèdent des seuils olfactifs plus élevés.

- Les alcools supérieurs, formés par les levures pendant la fermentation alcoolique, contribuent au profil aromatique de la plupart des spiritueux.

- Les acétates d'alcools supérieurs présentent généralement des notes fruitées/florales telles que l'acétate d'isoamyle (banane), l'acétate de 2-phényléthyle (rose, miel) ou l'acétate d'hexyle (fruité), mais dont les concentrations diminuent lors de la conservation du vin avant distillation.

- Les esters légers tels que le butanoate d'éthyle (fruité, kiwi), l'hexanoate d'éthyle (fraise) ou le phénylacétate d'éthyle (rose) contribuent également à la perception fruitée florale [7]. Ils regroupent des composés libérés dans le vin au cours de la fermentation alcoolique et dont la teneur dépend des conditions fermentaires : teneur en azote et en bourbes des moûts [8], souche de levure, oxygène et température de fermentation... Ces esters possèdent des caractéristiques sensorielles

voisines qui se renforcent entre elles et contribuent au profil aromatique des eaux-de-vie nouvelles.

Les composés liés à la distillation

Ils représentent environ 20 % des zones identifiées (figure 4). La distillation va agir de plusieurs manières dans la concentration des arômes : extraction de certains composés, sélection en fonction de leur volatilité, formation de nouveaux composés. Les molécules possèdent des volatilités différentes, entraînant des comportements divers en distillation. Certaines verront leur concentration augmenter tandis que d'autres ne distilleront pas dans l'eau-de-vie [9]. Les coupes réalisées par le distillateur lors du processus vont orienter ou non les molécules désirées dans les fractions retenues. Par ailleurs, la chauffe du vin dans l'alambic lors de la distillation va entraîner d'une part la dégradation de certains composés, et d'autre part la formation de nouveaux composés caractéristiques. La proportion de lies (mélange de parois de levure issues de la fermentation) dans les vins, au cours de leur distillation, contribue également à la formation de composés spécifiques. Certaines substances volatiles, favorables ou non à la qualité, peuvent ainsi se former ou être éliminées au cours de ce processus. Son importance pour la qualité des eaux-de-vie de Cognac a été fréquemment décrite.

- Les norisoprénoïdes décrits parmi les notes issues du raisin sont générés à partir de précurseurs inodores présents dans le vin par la chaleur de la distillation (figure 5). Leur origine est donc partagée entre le raisin et la distillation.

- Les différents composés carbonylés tels que l'isobutanal [10] et le 2-méthylbutanal (notes vertes) sont également produits lors de la distillation [11]. D'autres au contraire, comme le

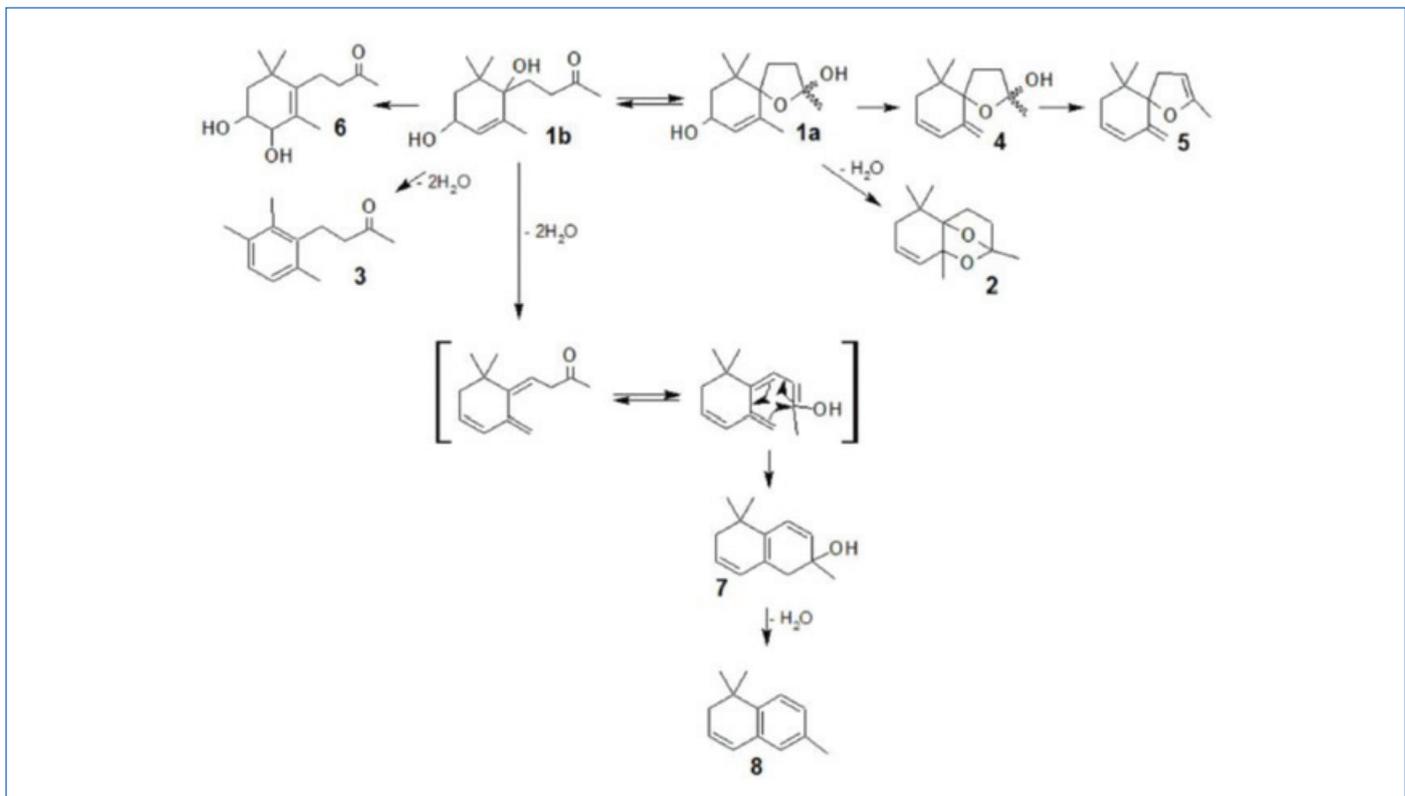


Figure 5 - Mécanisme de formation du TDN (8) et Riesling acétal (2) et TMPBA (3) [11].

Matrice	Etapes d'étude	Résultats
Molécule unitaire	Détection zone olfactive	80 zones identifiées dans les eaux-de-vie de Cognac
	Identification analytique	66 molécules identifiées
	Quantification analytique	60 molécules quantifiées ou semi-quantifiées
Solution à 40% vol.	Détermination du seuil de perception olfactif	51 seuils de perceptions déterminés
Eau-de-vie de Cognac	Impact aromatique	29 molécules avec un OAV > 1 (participent à l'arôme des eaux-de-vie de Cognac)

Reste à découvrir

Figure 6 - Synthèse des travaux réalisés sur la caractérisation de l'arôme des eaux-de-vie de Cognac au sein du Pôle Technique et Développement Durable du BNIC.

méthional (pomme de terre), sont en partie dégradés par l'effet « séquestrant » du cuivre de l'alambic.

- Les composés à très bas seuils olfactifs tels que les furanes, les pyridines ou les pyrazines sont produits par les réactions de Maillard. C'est notamment le cas du 2-méthyl-3-(méthyl-dithio)furane (note empyreumatique de praline).

- Les esters d'acide gras à chaîne moyenne à longue (8 à 18 atomes de carbone) sont principalement concentrés dans les levures. Leur présence est fortement liée aux conditions de distillation du vin, avec ou sans ses lies. Ils contribuent à l'enrichissement de certaines molécules comme l'octanoate d'éthyle (fruité, doux, abricot) ou le décanoate d'éthyle (fruité, crémeux) et dodécanoate d'éthyle, mais également l'ensemble des esters d'alcools supérieurs correspondants : esters d'isoamyle, d'isobutyle... La synergie aromatique entre ces différents esters renforce leur impact olfactif.

- Les alcools comme l'éthanol et un certain nombre d'analogues à chaîne plus longue (les alcools supérieurs) constituent un fond commun à toutes les eaux-de-vie et aux principaux spiritueux distillés (whisky, rhum, tequila...). Ces composés,

qui sont les plus abondants dans les eaux-de-vie, ont en général un seuil olfactif élevé. Ils contribuent néanmoins à la perception globale de l'eau-de-vie : une teneur élevée en alcools supérieurs est souvent associée à de la lourdeur. Certains alcools supérieurs correspondent à des zones olfactives caractérisées, mais peu qualitatives, comme les isopentanol (solvant, fève de cacao...).

Un reste à découvrir encore conséquent et qui ne pourra se substituer à la dégustation

Il ne s'agit là que de quelques exemples, qui illustrent la diversité de l'arôme d'une eau-de-vie nouvelle, et à plus forte raison d'une eau-de-vie rassis (après vieillissement en fût). En effet, certains composés, avec des OAV importants dans les eaux-de-vie nouvelles, voient leurs teneurs fortement diminuer au cours du vieillissement et n'auront plus l'impact qu'ils avaient à l'origine, comme par exemple le diacétyle à odeur de beurre ou le méthional avec des notes de pomme de terre, bouillon, légumes.

Les eaux-de-vie de Cognac démontrent ainsi une grande complexité aromatique, qui s'intensifiera encore au cours du vieillissement pour donner une forme d'excellence aux Cognacs.

Ces travaux sur les molécules aromatiques continuent de se poursuivre au fur et à mesure des avancées technologiques (abaissement des seuils de détection analytique) ou des opportunités d'obtention d'eaux-de-vie atypiques, qui permettent d'isoler un arôme ou groupe d'arômes (figure 6). Cependant, même si les méthodes d'analyse sont de plus en plus efficaces, il faudra encore de nombreuses années avant de parvenir à appréhender toute la complexité aromatique du Cognac, si cela est possible un jour !

Ces connaissances sont indispensables à la filière pour s'adapter aux divers changements (climatique, de pratiques...) et assurer un maintien de la qualité de ces produits. Cependant, l'appréciation sensorielle ne peut se résumer à une composition analytique et passera nécessairement par la dégustation de professionnels disposant d'une formation spécifique leur permettant d'intégrer les différentes dimensions de cette qualité et les perspectives d'évolution du produit. Les maîtres de chai, des différentes Maisons de Cognac, les bouilleurs de profession et les bouilleurs de crus de la filière Cognac en sont les garants.

[1] L. Ravaz, M.A. Vivier, *Le Pays du Cognac*, L. Coquemard, **1900**.

[2] R. Cantagrel, L. Lurton, J.-P. Vidal, B. Galy, From vine to Cognac, In *Fermented Beverage Production*, A.G.H. Lea, J.R. Piggott, (eds), Blackie Academic and Professional, Londres, **1995**, p. 208-228.

[3] G. Ferrari, O. Lablanquie, R. Cantagrel, J. Ledauphin, T. Payot *et al.*, Determination of key odorant compounds in freshly distilled Cognac using GC-O, GC-MS, and sensory evaluation, *J. Agric. Food Chem.*, **2004**, 52(18), p. 5670-76.

[4] M. Leyrat, O. Lablanquie, S. Estreguil, L. Urruty, R. Cantagrel *et al.*, The first aromatic map of freshly distilled Cognac spirit, Poster in 4th Symposium in Vino Analytica Scientia, Montpellier, **2005**.

[5] B. Pineau, J.-C. Barbe, C. Van Leeuwen, D. Dubourdieu, Examples of perceptive interactions involved in specific "red-" and "black-berry" aromas in red wines, *J. Agric. Food Chem.*, **2009**, 57, p. 3702-08.

[6] L. Lurton, G. Mazerolles, B. Galy, R. Cantagrel, J.-P. Vidal, Influence de la technologie de vinification sur la qualité des eaux-de-vie de Cognac : exemple des norisoprénoides et des alcools supérieurs, In *Les Eaux-de-vie Traditionnelles d'Origine Viticole*, 1^{er} Symposium international, Bordeaux, 26-30 juin 1990, A. Bertrand (ed.), Lavoisier Tec & Doc, **1991**, p. 127-136.

[7] R. Léauté, Distillation in alambic, *Am. J. Enol. Vitic.*, **1990**, 41(1), p. 90-102.

[8] G. Ferrari, Influence of must nitrogen composition on wine and spirit quality and relation with aromatic composition and defect, *J. Int. Sci. Vigne Vin.*, **2002**, 36(1), p. 1-10.

[9] R. Cantagrel, L. Lurton, J.-P. Vidal, B. Galy, La distillation charentaise pour l'obtention des eaux-de-vie de Cognac, In *Les Eaux-de-vie Traditionnelles d'Origine Viticole*, 1^{er} Symposium international, Bordeaux, 26-30 juin 1990, A. Bertrand (ed.), Lavoisier Tec & Doc, **1991**, p. 60-69.

[10] B. Galy, A. Loizeau, N. Giraud, L. Lurton, Mécanismes de formation et conséquences qualitatives de l'isobutanol présent dans les eaux-de-vie de Cognac, In *Les Eaux-de-vie Traditionnelles d'Origine Viticole*, 2^e Symposium international, Bordeaux, 25-27 juin 2007, A. Bertrand (ed.), Lavoisier Tec & Doc, **2008**, p. 111-115.

[11] P. Awad, Identification et compréhension des processus réactionnels conduisant à la génération de composés volatils lors de la distillation charentaise influant sur la qualité des eaux-de-vie de Cognac, Thèse de doctorat en génie des aliments, Université de Paris-Saclay, **2017**.

Corinne TRARIEUX*, responsable du Département Eaux-de-vie & Distillation, **Sylvie ESTREGUIL**, ingénieure Qualité Produit, et **Vincent WILHELM**, ingénieur Distillation, Pôle Technique et Développement Durable, Bureau National Interprofessionnel du Cognac (BNIC), Cognac.

* ctrarieux@bnic.fr

WILEY-VCH

Chemistry
Europe

Your research is important
and needs to be shared with the world

Articles published open access have higher readership
Articles are cited more often than comparable subscription-based articles
All articles freely available to read, download and share.

Submit your paper today.

www.chemistry-europe.org

RMN ¹H et authentification des vins

Résumé La contrefaçon des vins est un problème économique majeur pour l'ensemble des pays européens et est un défi scientifique complexe. Parmi les nombreuses approches analytiques récemment développées, la métabolomique par résonance magnétique nucléaire (RMN) est un outil de choix, qui est aujourd'hui utilisé pour garantir l'authenticité de nombreux produits alimentaires (vin, jus de fruits, huile d'olive, miel, etc.). C'est un outil complémentaire des méthodes officielles pour lutter contre les contrefaçons. Concernant le vin, la RMN permet de répondre à quatre principaux problèmes : l'origine géographique, le cépage, le millésime et la présence d'adultérations.

Mots-clés Vin, RMN, métabolomique, contrefaçon, fraude.

Abstract NMR ¹H and wine authentication

Wine counterfeiting is a major economic problem for all the European countries and is also a complex scientific challenge. Among the analytical approaches recently developed, NMR metabolomics is a promising tool used to guarantee the authenticity of many foods (wine, fruit juice, olive oil, honey, etc.). It is a complementary tool of official methods to fight against frauds. Concerning wine, NMR makes possible to respond to four main problems: geographical origin, grape variety, vintage and adulterations.

Keywords Wine, NMR, metabolomics, counterfeiting, fraud.

La contrefaçon des vins est une longue histoire. Il suffit pour en être convaincu de lire « *Ce que l'on boit aujourd'hui quand on croit boire du vin* », publié en 1883 [1]. De nos jours, le développement du commerce international du vin, l'augmentation du nombre de pays producteurs et la forte valeur ajoutée de ce produit font du vin un produit alimentaire sujet à de nombreux cas de fraudes (figure 1). Et pour en être totalement convaincu, il suffit de consulter le rapport de la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) de 2019 : « *Le contrôle des vins et spiritueux : retour sur des affaires récentes de fraude* » [2]. Pour lutter contre la fraude, différentes solutions ont été développées au cours du temps, depuis de simples analyses organoleptiques jusqu'à des analyses plus poussées utilisant des méthodes chromatographiques ou spectroscopiques [3]. Quatre principaux objectifs sont généralement ciblés : l'origine géographique, le cépage, le millésime et la présence d'adultérations. Les principales techniques utilisées pour contrôler l'origine des vins et leurs domaines d'application sont synthétisés dans le *tableau*.

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique analytique utilisée en sciences alimentaires depuis plusieurs décennies [4]. La méthode de fractionnement isotopique naturel spécifique par RMN (RMN-FINS*), développée par l'équipe du Pr. Martin de l'Université de Nantes, est une méthode officielle de l'Organisation internationale de la vigne et du vin (OIV) pour détecter la chaptalisation du vin [5]. Les approches par RMN métabolomique ont réellement commencé dans les années 1980 [6]. Il s'agit aujourd'hui d'une des méthodes les plus utilisées pour étudier des matrices alimentaires complexes comme le vin [7].

Analyse du métabolome du vin par RMN ¹H

Initialement, la RMN était principalement utilisée pour l'élucidation structurale de composés organiques. Elle est devenue un outil intéressant en métabolomique*, notamment en raison de ses propriétés quantitatives. Les principales étapes de l'analyse d'un vin par RMN, depuis la préparation de l'échantillon jusqu'à l'analyse finale, sont synthétisées ci-après.

Glossaire

Les termes suivis par un astérisque* dans le texte sont définis ci-dessous.

BMRB (Biological Magnetic Resonance Data Bank) : base de données spectrales et quantitatives issues des analyses spectroscopiques par RMN des molécules biologiques.

GC-MS : chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

LC-MS : chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse.

Métabolite : composé organique de petite taille produit par le métabolisme ; on distingue les métabolites primaires (acides aminés, sucres, etc.), liés aux processus vitaux d'un organisme, et les métabolites secondaires ou spécialisés, non vitaux mais indispensables (composés phénoliques, terpènes, etc.).

Métabolome : ensemble des métabolites présents dans une matrice biologique (identification et concentration).

Métabolomique : étude de l'ensemble des métabolites, petites molécules produites par le métabolisme d'une matrice biologique (cellules, organes, produits dérivés), qui permet de décrire l'état physiologique d'une matrice biologique et son évolution suite à une perturbation biotique ou abiotique.

PLS-DA et OPLS-DA (partial least squares discriminant analysis & orthogonal partial least squares discriminant analysis) : méthodes statistiques de régression des moindres carrés partiels permettant de modéliser les relations complexes existantes entre variables observées et latentes.

RMN-FINS (fractionnement isotopique naturel spécifique par RMN) : méthode de mesure par RMN des rapports isotopiques (D/H) des différents sites d'une molécule.

Séquence NOESY 1D (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy) : séquence RMN monodimensionnelle de suppression sélective des signaux des solvants basée sur l'effet nucléaire Overhauser.

Séquence présaturation : séquence RMN monodimensionnelle de suppression sélective du signal de l'eau par pré-saturation de celui-ci.

YMDB (Yeast Metabolome DataBase) : base de données des métabolites trouvés dans ou produits par *Saccharomyces cerevisiae*.

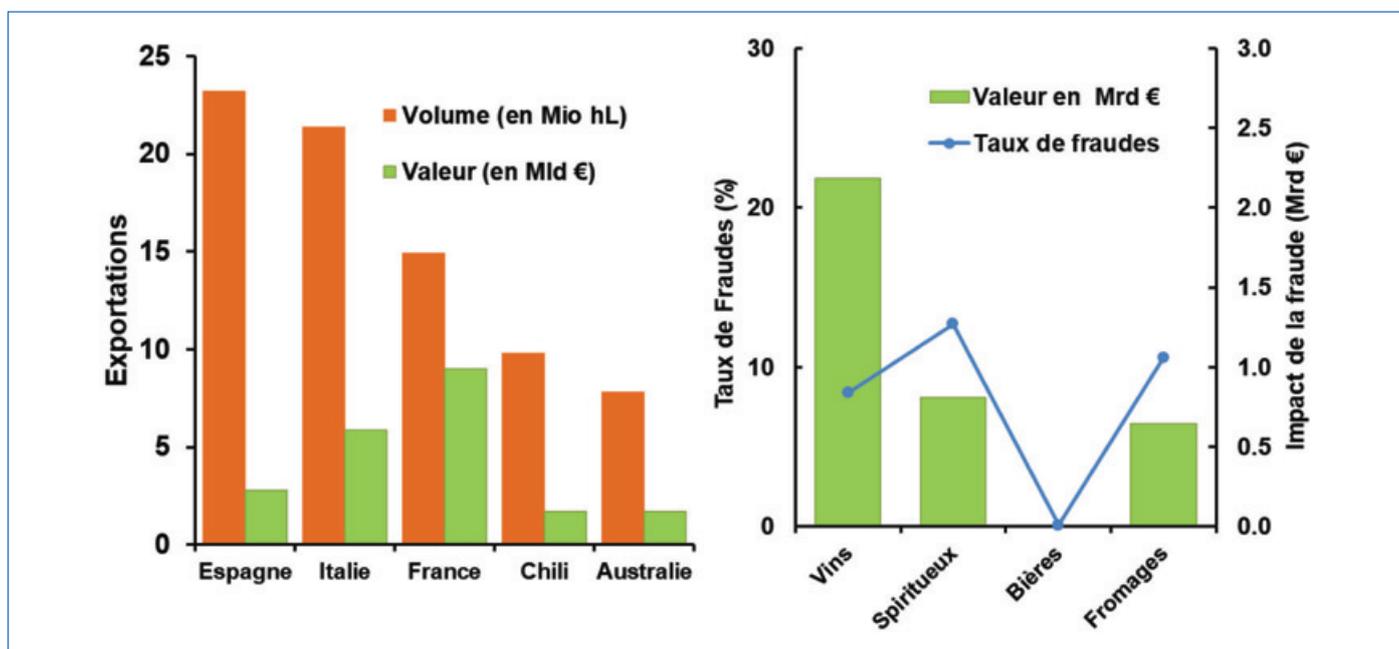


Figure 1 - Principaux pays exportateurs en 2017 (à gauche) et marché de la fraude en 2016 en Europe (à droite) à partir des données de l'Organisation internationale de la vigne et du vin (OIV) et de l'Office de l'Union européenne pour la propriété intellectuelle (EUIPO).

Techniques analytiques	Applications	Marqueurs
Chromatographie liquide	Origine géographique, cépage, millésime	Composés organiques
Radioactivité	Millésime	Césium 137
Résonance magnétique nucléaire (RMN)	Origine géographique, millésime, adultération	Dosage spécifique deutérium (rapport D/H)
Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS)	Origine géographique	Éléments lourds
Spectrométrie de masse de rapport isotopique (IRMS)	Origine géographique, adultération	Rapports isotopiques (carbone, oxygène)

Principales techniques analytiques utilisées pour contrôler l'origine d'un vin.

Préparation des échantillons

La préparation des échantillons de vin est une étape déterminante pour l'analyse quantitative par RMN. Plusieurs protocoles ont été proposés, allant de la simple lyophilisation jusqu'au fractionnement sur colonne. La méthode la plus utilisée est l'analyse directe du vin après ajout d'un tampon phosphate préparé dans de l'eau deutérée et de standards de calibration et de quantification [8-9], le pH de l'échantillon étant en général ajusté à l'aide d'un robot de titration.

Acquisition et traitement des spectres RMN ¹H

Du fait de sa composition chimique, le spectre RMN ¹H d'un vin est dominé par les signaux de l'eau (δ_H 4,8 ppm) et de l'éthanol (δ_H 3,6 et 1,2 ppm). Il est donc nécessaire d'utiliser

des séquences de suppression des solvants pour observer les signaux d'intérêt. Les deux séquences les plus utilisées sont la présaturation* et la NOESY 1D* [8-9]. Ces séquences permettent une suppression spécifique des signaux de l'eau et de l'éthanol (figure 2). Les spectres obtenus subissent ensuite différents traitements : phase, correction de la ligne de base, alignement des signaux, etc., qui vont influencer fortement la qualité des données extraites du spectre RMN.

Analyse des spectres RMN ¹H

Pour extraire des informations des spectres RMN, deux approches peuvent être utilisées : l'analyse non ciblée (« fingerprinting ») et/ou l'analyse ciblée. La première méthode consiste en une analyse globale des données spectrales par

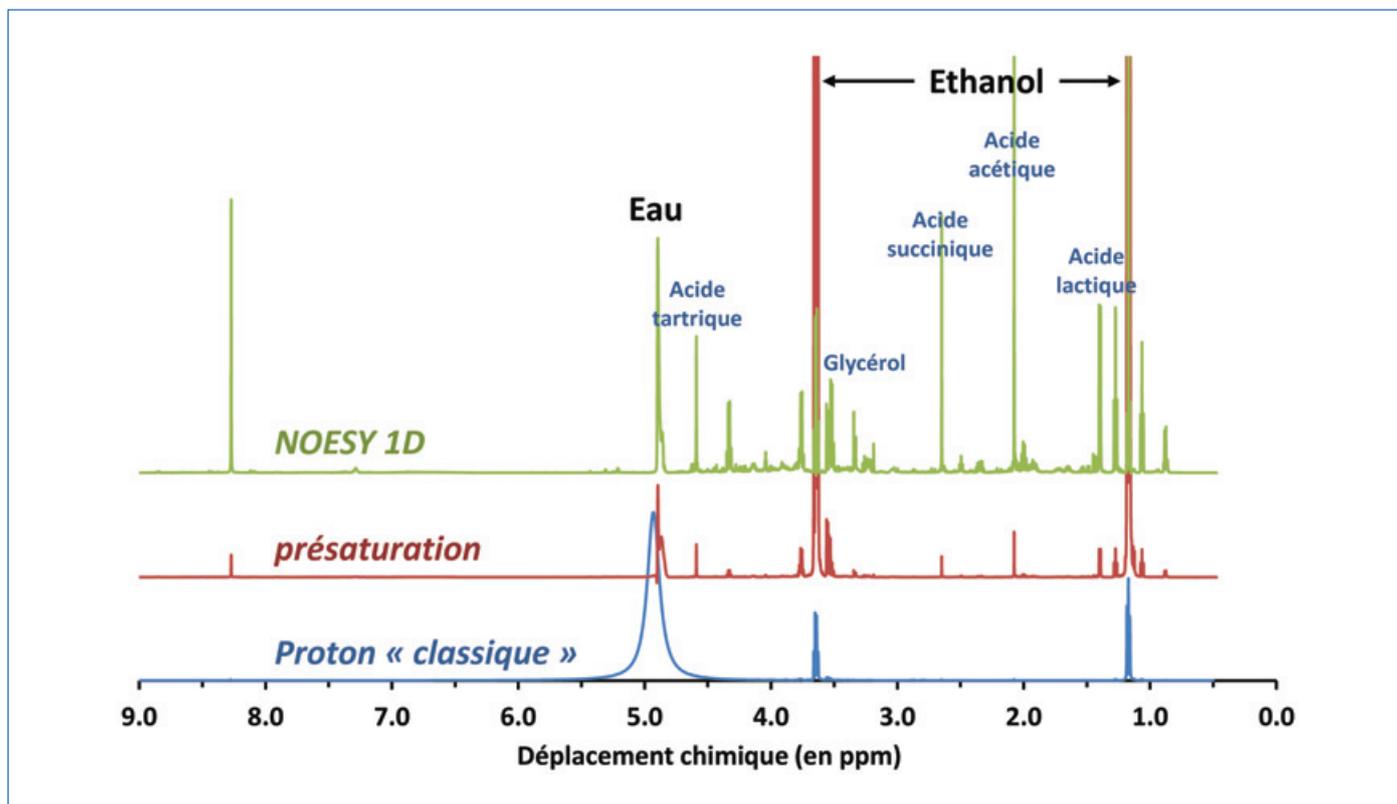


Figure 2 - Spectres RMN d'un échantillon de vin enregistrés à l'aide de trois différentes séquences : proton « classique » (bleu), présaturation avec suppression du signal de l'eau (rouge), et NOESY 1D avec suppression des signaux de l'eau et de l'éthanol (vert).

découpage du spectre en petits intervalles (« binning »). Cette opération permet, après traitement statistique des données, de remonter à l'origine du vin [10]. Mais elle reste un challenge pour une application concrète car le vin est une matrice active qui évolue au cours du temps [11]. L'analyse ciblée est basée sur l'identification préalable des signatures spectrales des métabolites du vin. Cette identification peut être effectuée par comparaison à la littérature et à des bases de données spectrales (BMRB, YMDB*, etc.), grâce à l'utilisation d'expériences RMN bidimensionnelle et par ajouts de composés purs (méthode des ajouts dosés). Aujourd'hui, plus d'une cinquantaine de composés peuvent être identifiés sans ambiguïté sur un spectre RMN (alcools, acides aminés, acides organiques, composés phénoliques, sucres, esters, aldéhydes et cétones) [12]. Les composés identifiés peuvent ensuite être quantifiés à l'aide d'un signal de référence électronique ou chimique [13]. Du fait de la complexité du spectre RMN, la quantification d'un métabolite nécessite souvent l'utilisation d'outils mathématiques de déconvolution du signal [9]. De plus, l'introduction de facteurs de correction est nécessaire pour tenir compte des effets des séquences RMN utilisées [8]. Cette approche permet de quantifier avec précision les métabolites majoritaires du vin en une seule expérience. Pour illustrer la précision de l'analyse ciblée par RMN ^1H , le dosage par RMN a été comparé aux valeurs de références des échantillons TITRIVIN série AA [14], échantillons commercialisés par la Chambre d'agriculture de la Gironde pour la calibration des équipements de mesure, pour cinq paramètres : degré alcoolique (TAV), somme glucose + fructose et acides malique, lactique et acétique (figure 3). Les résultats obtenus montrent une bonne convergence entre les mesures RMN et les valeurs de références mesurées par les méthodes officielles de l'OIV [15].

Traitement des données

Toutes les techniques de métabolomique, que l'analyse soit ciblée ou non, produisent un très grand volume de données. Pour les exploiter, des analyses statistiques multivariées sont le plus souvent appliquées [16]. Deux approches complémentaires sont utilisées : des analyses statistiques descriptives (analyses en composantes principales, etc.) et des analyses statistiques explicatives (méthode des moindres carrés partiels, etc.). Elles permettent de visualiser l'information contenue dans une matrice de données dans un espace à deux, en général.

Les analyses statistiques descriptives, ou non supervisées, ne prennent pas en compte les informations sur la nature des échantillons. Ces méthodes, comme l'analyse en composantes principales (ACP) ou l'analyse de cluster hiérarchique (HCA), permettent de classer les vins sans attribution d'échantillons à un groupe d'appartenance. L'ACP est en général la première analyse statistique utilisée pour traiter les données. Elle représente les données dans un espace réduit à l'aide de nouveaux axes, appelés composantes principales, issus de combinaisons linéaires des variables initiales. Ces composantes principales sont classées par ordre d'importance.

Contrairement aux méthodes non supervisées, les analyses statistiques explicatives, ou supervisées, comme l'analyse discriminante des moindres carrés partiels (PLS-DA*) et la projection orthogonale des moindres carrés partiels (OPLS-DA*), utilisent des ensembles d'apprentissage avec des informations connues *a priori* (cépage, origine géographique, etc.) pour construire un modèle de classification. Ces méthodes cherchent à modéliser les relations complexes entre des variables observées et des variables latentes, ces dernières concentrant la discrimination des classes. L'appartenance des échantillons à une classe donnée est prise en

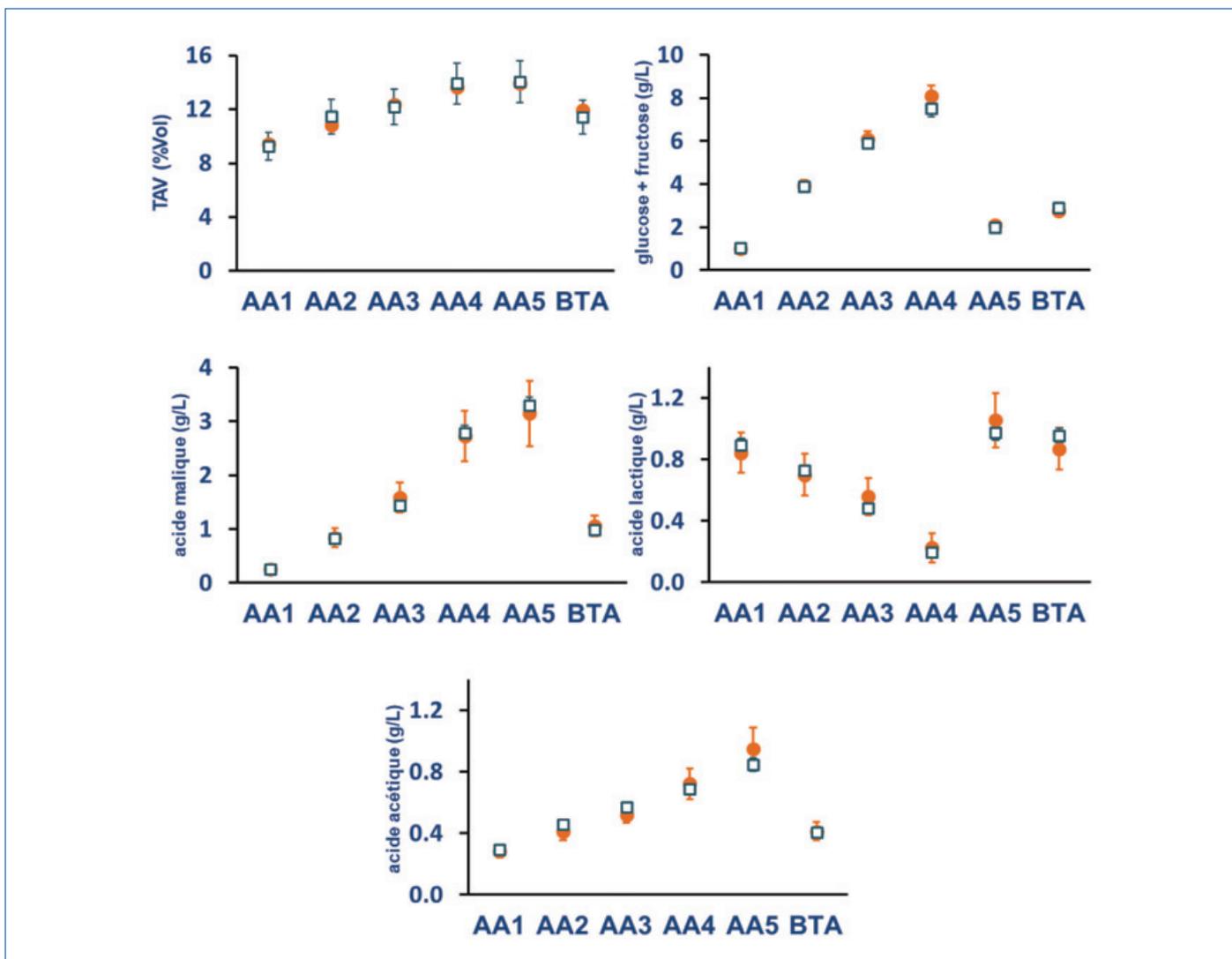


Figure 3 - Comparaison des dosages par RMN (carrés bleus) aux valeurs de référence (ronds oranges) des échantillons de vins TITRIVIN série AA [15].

compte dès le départ. Ces variables possèdent un fort pouvoir discriminant, mais peuvent conduire à une séparation artificielle des groupes sans réelle différence entre eux [4]; une procédure de validation du modèle est donc indispensable.

Application de la RMN ¹H à l'authenticité du vin

Comparaison avec les méthodes officielles

Le contrôle usuel de l'authenticité d'un vin est réalisé à partir de méthodes officielles de l'OIV [17]. Ces méthodes classiques permettent de mesurer différents paramètres d'un vin : degré alcoolique, sucres, acidité volatile, composés volatils, acides organiques, concentration en métaux, rapports isotopiques (deutérium, carbone 13, oxygène 18). Ces dosages sont longs et coûteux. La RMN présente en comparaison de nombreux avantages : analyse directe de l'échantillon de vin, faible volume de vin, analyse unique pour doser plusieurs composés de familles chimiques différentes. Il s'agit donc d'une méthode complémentaire des approches classiques.

L'étape critique est la comparaison de deux mesures et la limite pour établir que deux échantillons sont différents. Basé sur une approche ciblée, un outil de comparaison, appelé score de similarité (*s*-score) et basé sur la méthode statistique du *z*-score, a été mis au point, qui tient compte

du vieillissement des vins en bouteille et de l'incertitude de mesure [17]. Pour chaque composé dosé, un *s*-score est calculé, en utilisant la formule suivante :

$$s\text{-score} = \frac{C_S - C_A}{\sigma}$$

où C_S est la concentration d'un composé de l'échantillon suspect, C_A la concentration d'un composé de l'échantillon authentique, et σ l'incertitude de mesure.

Le *s*-score reflète la différence entre deux échantillons pour un composé donné. Si le *s*-score obtenu est supérieur à 2, les concentrations du composé dans les deux échantillons sont significativement différentes. On peut ainsi calculer les *s*-scores de tous les composés dosés par RMN. Deux échantillons qui présentent plus de quatre *s*-scores supérieurs à 2 sont considérés comme différents. Cette méthode a permis de montrer que la RMN ¹H permet de discriminer des échantillons de vin entre eux, de façon complémentaire aux méthodes classiques, y compris pour de vieux millésimes [17]. Pour illustrer cette méthode, quatre échantillons suspects de vins issus de trois millésimes différents (SM1a, SM1b, SM2, SM3) d'un prestigieux Château ont été comparés aux vins originaux (OM1, OM2 et OM3). La comparaison des *s*-scores, obtenus à partir des données RMN, montre que les échantillons SM1a et SM1b sont conformes à l'original (OM1),

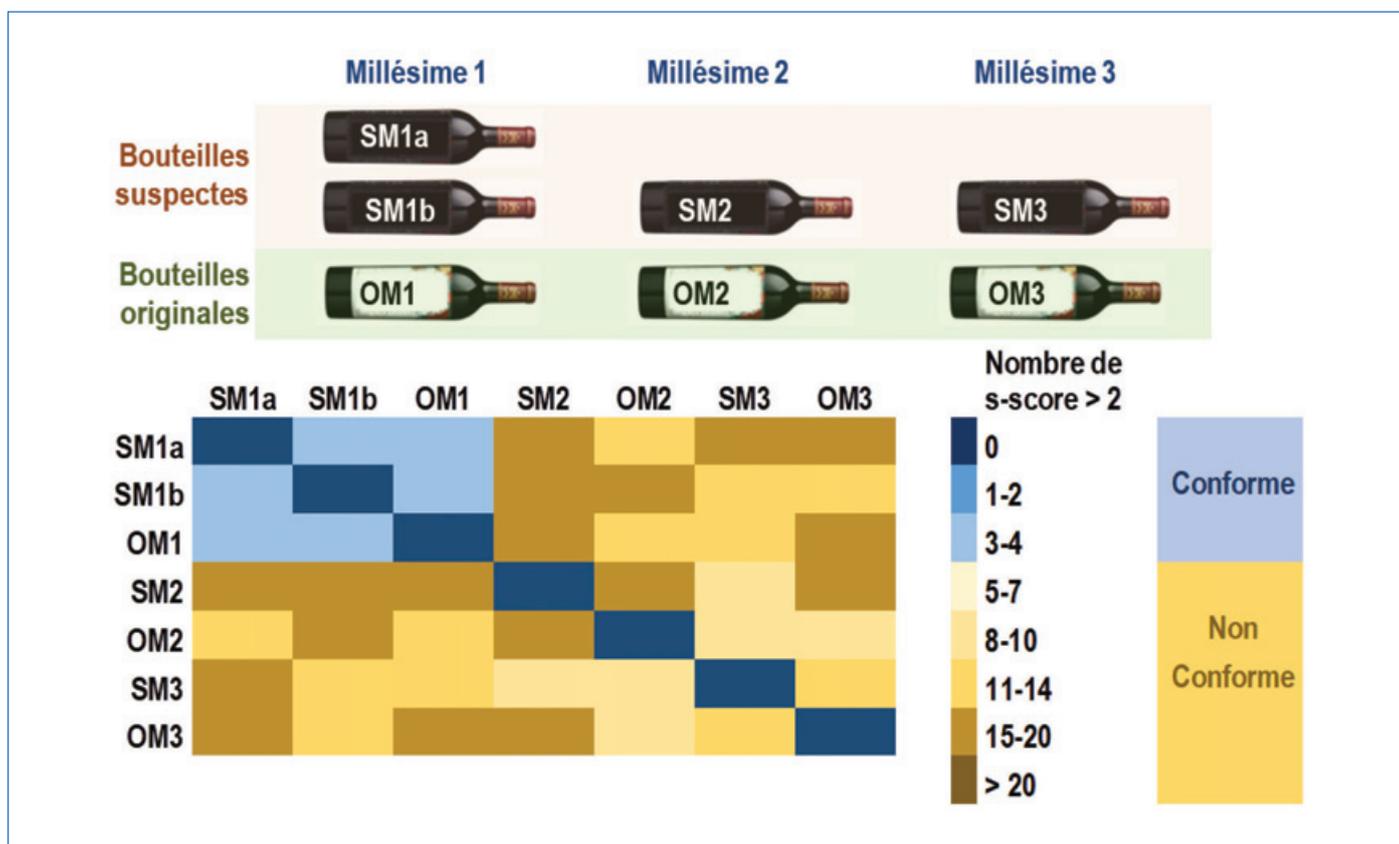


Figure 4 - Analyse des échantillons suspects (SM1a, SM1b, SM2, SM3) par comparaison aux échantillons originaux (OM1, OM2 et OM3). La « heat map » représente le nombre de s-score supérieur à 2 obtenu par comparaison de deux échantillons. Deux échantillons sont différents (non conformes) si le nombre de s-scores supérieur à 2 est supérieur à 4 [17].

alors que les vins SM2 et SM3 sont non conformes (figure 4). Ces résultats ont été confirmés par les analyses classiques réalisées par le SCL (Service commun des laboratoires DGDDI et DGCCRF).

L'origine géographique

Comme indiqué précédemment, l'origine géographique est un critère fondamental de l'authenticité des vins [7]. La francisation de vins importés d'Espagne est un cas classique de fraude rencontré sur le marché national, et qui peut porter sur plusieurs millions de bouteilles [18]. Il a été largement montré que les approches de RMN métabolomique permettent de discriminer les vins de différents pays ou de différentes appellations au sein d'un même pays [9, 19]. La figure 5 illustre cette capacité à discriminer des vins de différentes origines géographiques. Dans cet exemple, des vins blancs de Bordeaux et de Bourgogne de différents millésimes ont été analysés par RMN ^1H et comparés par ACP. Les vins issus de ces deux régions sont clairement distingués.

Cette classification des vins en fonction de l'origine géographique est directement liée au terroir spécifique de chaque appellation. Ce terroir est marqué par les pratiques viticoles et œnologiques spécifiques à chaque région.

Le cépage

Le cépage est un facteur majeur de la composition chimique et de la qualité des vins. Les vins de cépages sont également très demandés à l'export. La DGCCRF rapporte la forte demande en vins de cépage Pinot par les consommateurs américains, suite à la diffusion du film *Sideways*. Les importateurs exigeant toujours plus de Pinot, les fournisseurs ont fini par produire des vins étiquetés Pinot mais contenant un autre

cépage [20]. Il a été montré qu'une approche par RMN métabolomique permet de discriminer les vins selon les cépages utilisés, aussi bien les vins rouges [21-23] que les vins blancs [20, 24]. Récemment, une étude, réalisée sur près de mille échantillons, a permis de différencier de façon satisfaisante les vins issus de plus d'une dizaine de cépages différents [25]. Ces travaux ont montré que la capacité à discriminer les cépages dépendait du cépage considéré. Dans la réalité, de nombreux vins sont issus d'un assemblage de différents cépages. Une étude a également montré que la métabolomique RMN peut discriminer les vins élaborés avec des proportions variables de cépages différents [26].

Le millésime

Enfin, le millésime est un critère de qualité pour de nombreux vins, et ce critère conditionne fortement le prix final d'une bouteille. Le cas le plus célèbre de fraude sur le millésime porte sur la vente d'une bouteille de Château Lafitte de 1787, qui aurait appartenu à Thomas Jefferson, vendue 156 000 dollars en 1985 [27]. Il est donc fondamental de pouvoir garantir l'authenticité d'un millésime indiqué. Plusieurs travaux ont montré que la RMN ^1H permet de classer les vins selon le millésime [22, 28]. Dans une étude récente sur des vins de Cabernet Sauvignon, il a été montré que la RMN métabolomique a permis de discriminer correctement les vins issus de quatre millésimes différents de 2009 à 2012, cette classification étant liée aux teneurs des métabolites étudiées dans chaque millésime [29]. Ce résultat n'est pas étonnant car un millésime reflète les conditions spécifiques (climat, état sanitaire, etc.) d'une année donnée. En ce sens, une autre étude a montré que la capacité à distinguer deux millésimes proches dépend des millésimes sélectionnés [9].

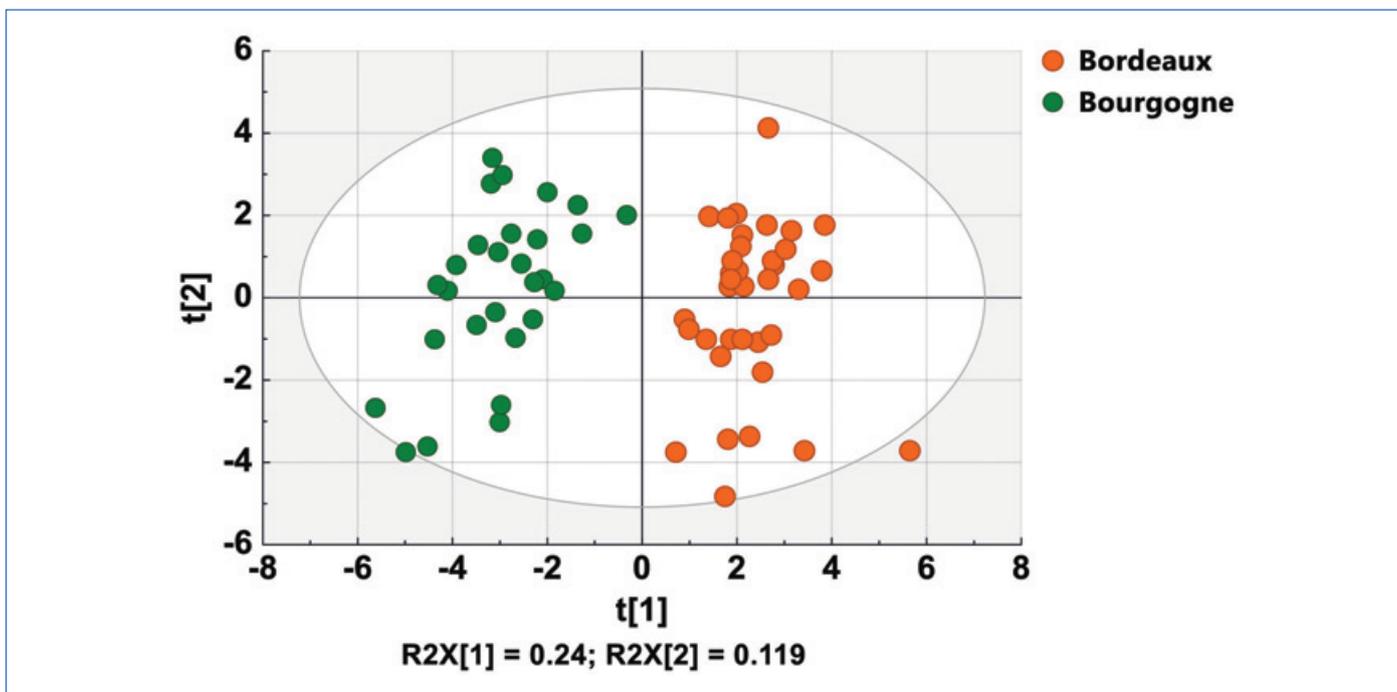


Figure 5 - Analyse en composantes principales (ACP) réalisée à partir des données RMN ^1H de vins blancs de Bordeaux ($n = 38$) et de Bourgogne ($n = 28$) issus de millésimes compris entre 2009 et 2016. R2X[1] et R2X[2] désignent les deux premières composantes principales. Les données ont été traitées avec le logiciel SIMCA (Sartorius).

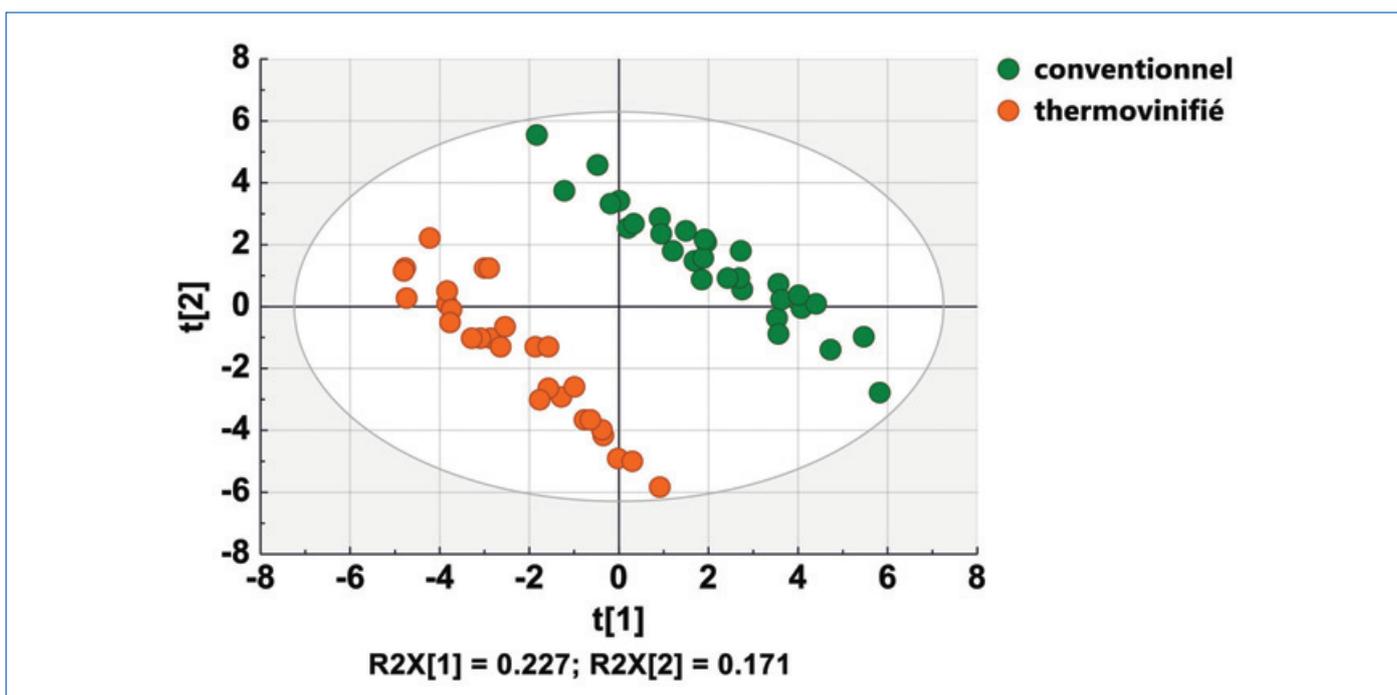


Figure 6 - ACP réalisée à partir des données RMN ^1H de vins rouges produits suite à une vinification classique ($n = 30$) et à une thermovinification ($n = 30$). Chaque vin a subi un itinéraire différent après vinification (enzymage, collage, filtration, etc.). R2X[1] et R2X[2] désignent les deux premières composantes principales. Les données ont été traitées avec le logiciel SIMCA (Sartorius).

Les pratiques vitivinicoles

Le dernier critère souligné ici pour la classification des vins est la mise en évidence de pratiques vitivinicoles liées à un terroir donné. Initialement la RMN-FINS* a été utilisée pour mettre en évidence l'ajout de sucre au moût [5]. Cette méthode, aujourd'hui largement répandue, est basée sur la mesure des rapports isotopiques D/H sur les différents sites de l'éthanol.

La RMN métabolomique permet également de discriminer différentes pratiques vitivinicoles depuis la sélection des baies de raisin jusqu'à l'analyse de l'évolution du vin final en

bouteille. L'influence des pratiques viticoles a été mise en évidence, comme les modes de conduite des sols (travail du sol, ajout de fertilisants) [30-31]. De même, l'influence du stade de maturité sur le vin final a été suivie par RMN [12, 32]. La RMN métabolomique permet également de suivre et discriminer différents procédés œnologiques en cours de vinification [12, 33]. Enfin, il a été montré que la RMN permet de suivre l'évolution des vins en bouteille [34].

La *figure 6* illustre la capacité de la RMN à distinguer des procédés de vinification différents ; dans ce cas, des vins rouges issus d'une vinification classique et d'une thermovinification.

Cette dernière méthode consiste à chauffer la vendange pendant un certain temps avant le pressurage. Les vins en vinification classique et en thermovinification ont subi différents traitements œnologiques (enzymage, collage, filtration, etc.). Les données extraites des spectres RMN ont été traitées par analyse statistique multivariée. Comme on peut le voir sur la figure, une claire discrimination des deux procédés de vinification est observée. Cette étude a également permis de mettre en évidence les principaux métabolites permettant de discriminer ces procédés. La RMN est donc un outil de choix pour mettre en évidence et suivre des pratiques vitivinicoles spécifiques.

Vers une meilleure efficacité des méthodes

La lutte contre la contrefaçon des vins est un enjeu économique majeur. Démontrer qu'un vin a été contrefait peut se révéler être un challenge scientifique complexe à résoudre. Dans ce but, la RMN est un outil utile à côté des autres approches analytiques existantes. La métabolomique par RMN ¹H permet d'assurer la traçabilité des vins. Cette technique présente de nombreux avantages : préparation facile des échantillons, temps d'analyse courts, grande reproductibilité et spécificité adéquate [6]. En combinaison avec une analyse de chimométrie adéquate, les approches ciblées par spectroscopie RMN permettent la discrimination de paramètres fondamentaux de l'authenticité d'un vin : l'origine géographique, le cépage, le millésime et la présence d'adultérations. Les approches non ciblées sont prometteuses mais constituent un défi pour une application concrète pour des analyses officielles.

Un travail de standardisation des analyses reste à réaliser afin d'obtenir une méthode universelle et ouverte, depuis la préparation des échantillons jusqu'aux analyses finales. Ce travail est nécessaire pour respecter le principe du contradictoire dans les procédures judiciaires.

Enfin, la lutte contre la contrefaçon est un domaine complexe. Le besoin d'innovation dans les techniques analytiques reste constant. L'application de diverses technologies « omiques » complémentaires est un challenge prometteur. Ces outils, comme la spectrométrie de masse, permettent une analyse globale du vin à l'échelle moléculaire. Des études récentes ont tenté de fusionner des données de RMN ¹H, LC-MS et GC-MS* pour assurer la traçabilité des rhums [35] et des vins [36]. Ces études montrent la non-redondance des données et une meilleure efficacité de prédiction, renforçant l'intérêt de telles approches.

Les auteurs remercient pour leur soutien l'ANR (projet WAPNMR, ANR-21-CE21-0014), l'ANRT (Inès Le Mao a été titulaire d'une bourse doctorale CIFRE avec la Société Baron Philippe de Rothschild), la société Biolaffort et la Fondation de Bordeaux (donateurs : Baron Philippe de Rothschild SA, Château Cheval Blanc, Château Lafite Rothschild, Le Domaine Clarence Dillon, Château Petrus), ainsi que le Conseil interprofessionnel des vins de Bordeaux (CIVB) et la Région Nouvelle Aquitaine pour le projet VRAI (Vin Recherche Authenticité Identité). Les analyses ont été réalisées sur la plateforme MetaboHUB Bordeaux (projet ANR-11-INBS-0010).

[1] Anonyme, *Ce que l'on boit aujourd'hui quand on croit boire du vin*, A. Ghio (éd.), Gallica, BNF, 1883.
 [2] www.economie.gouv.fr/dgccrf/le-controle-des-vins-et-spiritueux-retour-sur-des-affaires-recentes-de-fraude, 15/10/2019 (consulté le 22/10/2022).
 [3] B. Medina, M.-H. Salagoity, F. Guyon, J. Gaye, P. Hubert, F. Guillaume, Chap. 8: Using new analytical approaches to verify the origin of wine, *New Analytical Approaches for Verifying the Origin of Food*, P. Brereton (ed.), Woodhead Publishing, 2013, p. 149-188.
 [4] E. Hatzakis, Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy in food science: a comprehensive review, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2019, 18, p. 189.

[5] M. Viskić, L.M. Bandić, A.M.J. Korenika, A. Jeromel, NMR in the service of wine differentiation, *Foods*, 2021, 10, p. 120.
 [6] D.S. Wishart, NMR metabolomics: a look ahead, *J. Magn. Reson.*, 2019, 306, p. 155.
 [7] M. Amargianitaki, A. Spyros, NMR-based metabolomics in wine quality control and authentication, *Chem. Biol. Technol. Agric.*, 2017, 4, p. 9.
 [8] R. Godelmann, C. Kost, C.-D. Patz, R. Ristow, H. Wachter, Quantitation of compounds in wine using 1H NMR spectroscopy: description of the method and collaborative study, *J. AOAC Int.*, 2016, 99, p. 1295.
 [9] L. Gougeon, G. da Costa, F. Guyon, T. Richard, 1H NMR metabolomics applied to Bordeaux red wines, *Food Chem.*, 2019, 301, p. 125257.
 [10] D.A. Magdas, A. Pirnau, I. Feher, F. Guyon, B.I. Cozar, Alternative approach of applying 1H NMR in conjunction with chemometrics for wine classification, *LWT-Food Sci. Technol.*, 2019, 109, p. 422.
 [11] P.A. Solovyev, C. Fahl-Hassek, J. Riedl, S. Esslinger, L. Bontempo, F. Camin, NMR spectroscopy in wine authentication: an official control perspective, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2021, 20, p. 2040.
 [12] I. Le Mao, J. Martin-Pemier, C. Bautista, S. Lacampagne, T. Richard, G. Da Costa, 1H-NMR metabolomics as a tool for winemaking monitoring, *Molecules*, 2021, 26, p. 6771.
 [13] S.K. Bharti, R. Roy, Quantitative 1H NMR spectroscopy, *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2012, 35, p. 5.
 [14] www.titrivin.com/ (rubrique « Qui sommes-nous ? ») (consulté le 22/10/2022).
 [15] L. Gougeon, G. Da Costa, I. Le Mao, W. Ma, P.L. Teissedre, F. Guyon, T. Richard, Wine analysis and authenticity using 1H-NMR metabolomics data: application to Chinese wines, *Food Anal. Methods*, 2018, 11, p. 3425.
 [16] D. Granato, Putnik P., D.B. Kovačević, J.S. Santos, V. Calado et al., Trends in chemometrics: food authentication, microbiology, and effects of processing, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2018, 17, p. 663.
 [17] L. Gougeon, G. Da Costa, T. Richard, F. Guyon, Wine authenticity by quantitative 1H NMR versus multitechnique analysis: a case study, *Food Anal. Methods*, 2019, 12, p. 956.
 [18] www.economie.gouv.fr/dgccrf/controle-des-vins-etranagers-sans-indication-geographique-vsig, 09/07/2018 (consulté le 22/10/2022).
 [19] R. Godelmann, F. Fang, E. Humpfer, B. Schütz, M. Bansbach, H. Schäfer, M. Spraul, Targeted and nontargeted wine analysis by 1H NMR spectroscopy combined with multivariate statistical analysis. Differentiation of important parameters: grape variety, geographical origin, year of vintage, *J. Agric. Food Chem.*, 2013, 61, p. 5610.
 [20] www.economie.gouv.fr/dgccrf/faits-marquants-sur-les-fraudes-liees-au-vin (consulté le 22/10/2022).
 [21] M. Anastasiadi, A. Zira, P. Magiatis, S.A. Haroutounian, A.L. Skaltsounis, E. Mikros, 1H NMR-based metabolomics for the classification of Greek wines according to variety, region, and vintage. Comparison with HPLC data, *J. Agric. Food Chem.*, 2009, 57, p. 11067.
 [22] S. Fan, Q. Zhong, C. Fahl-Hassek, M.K.H. Pfister, B. Horn, Z. Huang, Classification of Chinese wine varieties using 1H NMR spectroscopy combined with multivariate statistical analysis, *Food Control*, 2018, 88, p. 113.
 [23] J. Zhu, B. Hu, J. Lu, S. Xu, Analysis of metabolites in Cabernet Sauvignon and Shiraz dry red wines from Shanxi by 1H NMR spectroscopy combined with pattern recognition analysis, *Open Chem.*, 2018, 16, p. 446.
 [24] K. Ali, F. Maltese, R. Toepfer, Y.H. Choi, R. Verpoorte, Metabolic characterization of Palatinate German white wines according to sensory attributes, varieties, and vintages using NMR spectroscopy and multivariate data analyses, *J. Biomol. NMR*, 2011, 49, p. 255.
 [25] A. Mascellani, G. Hoca, M. Babisz, P. Krska, P. Klouček, J. Havlík, 1H NMR chemometric models for classification of Czech wine type and variety, *Food Chem.*, 2021, 339, p. 127852.
 [26] G. Imparato, E.D. Paolo, A. Braca, R. Lamanna, Nuclear magnetic resonance profiling of wine blends, *J. Agric. Food Chem.*, 2011, 59, p. 4429.
 [27] B. Wallace, *The Billionaire's Vinegar: the Mystery of the World's Most Expensive Bottle of Wine*, Crown Publishers, 2008.
 [28] R. Consonni, L.R. Cagliani, V. Guantieri, B. Simonato, Identification of metabolic content of selected Amarone wine, *Food Chem.*, 2011, 129, p. 693.
 [29] H. Zhang, B. Hu, S. Xu, J. Zhu, Q. Zhao, J. Gao, Quality evaluation of Cabernet Sauvignon wines in different vintages by 1H nuclear magnetic resonance-based metabolomics, *Open Chem.*, 2021, 19, p. 385.
 [30] S.A. De Pascali, A. Coletta, L. Del Coco, T. Basile, G. Gambacorta, F.P. Fanizzi, Viticultural practice and winemaking effects on metabolic profile of Negroamaro, *Food Chem.*, 2014, 161, p. 112.
 [31] A. Ciampa, M.T. Dell'Abate, A. Florio, L. Tarricone, D. Di Genaro et al., Combined magnetic resonance imaging and high resolution spectroscopy approaches to study the fertilization effects on metabolome, morphology and yeast community of wine grape berries, cultivar Nero di Troia, *Food Chem.*, 2019, 274, p. 831.
 [32] E.G. Alves Filho, L.M.A. Silva, T.O. Lima, P.R.V. Ribeiro, C.S. Vidal et al., 1H NMR and UPLC-HRMS-based metabolomic approach for evaluation of the grape maturity and maceration time of Touriga Nacional wines and their correlation with the chemical stability, *Food Chem.*, 2022, 382, p. 132359.
 [33] E. López-Rituerto, K.M. Sørensen, F. Savorani, S.B. Engelsen, A. Avenozza et al., Monitoring of the Rioja red wine production process by 1H-NMR spectroscopy, *J. Sci. Food Agric.*, 2021, 102, p. 3808.
 [34] C. Cassino, C. Tsolakis, F. Bonello, V. Gianotti, D. Osella, Wine evolution during bottle aging, studied by 1H NMR spectroscopy and multivariate statistical analysis, *Food Res. Int.*, 2018, 116, p. 566.
 [35] J.R. Belmonte-Sánchez, R. Romero-González, J.L. Martínez Vidal, F.J. Arrebola, A. Garrido French, 1H NMR and multi-technique data fusion as metabolomic tool for the classification of golden rums by multivariate statistical analysis, *Food Chem.*, 2020, 317, p. 126363.
 [36] D. Kioroglou, A. Mas, M.C. Portillo, Qualitative factor-based comparison of NMR, targeted and untargeted GC-MS and LC-MS on the metabolomic profiles of Rioja and Priorat red wines, *Foods*, 2020, 9, p. 1381.

Tristan RICHARD*, professeur des universités, Inès LE MAO, doctorante, et Grégory DA COSTA, maître de conférences, Université de Bordeaux, INRAE, Bordeaux INP, Bordeaux Science Agro, UMR OENO, ISVV, Villenave d'Ornon.

* tristan.richard@u-bordeaux.fr

Vers un contrôle des vins par spectroscopie Raman ?

Résumé La spectroscopie Raman a été très peu exploitée pour l'analyse des vins. Des difficultés notables limitent son utilisation car les molécules d'intérêt pour leurs vertus organoleptiques sont en très faible concentration dans un milieu constitué à 95 % d'eau et d'éthanol. Par ailleurs, la fluorescence émise par les vins irradiés par un rayonnement laser dans le visible est très importante, masquant le plus souvent l'émission Raman. Cet article montre que ces difficultés peuvent être contournées en exploitant les phénomènes d'exaltation de la diffusion Raman par effet de résonance électronique. Il discute également brièvement de l'exaltation du signal Raman par résonance plasmonique en présence de nanoparticules d'argent.

Mots-clés Spectroscopie Raman de résonance, vins blancs et rouges, acides hydroxycinnamiques, anthocyanes, SERS.

Abstract Raman spectroscopy for wine analysis?

Raman spectroscopy has been little used for wine analysis. Notable difficulties limit its use because the molecules of interest for their organoleptic virtues are in very low concentration in a medium composed of 95% water and ethanol. Moreover, the fluorescence emission in wines irradiated by a laser radiation in the visible range is very high, often making it impossible to observe Raman scattering. This article shows that these difficulties can be overcome by exploiting the phenomena of enhancement of Raman scattering by resonance effect. It also briefly discusses the enhancement of the Raman signal by plasmon resonance in the presence of silver nanoparticles.

Keywords Resonance Raman spectroscopy, white and red wines, hydroxycinnamic acids, anthocyanins, SERS.

La spectroscopie optique pour l'analyse des vins

Il existe une très grande variété de techniques analytiques, souvent complémentaires, pour la détermination de la composition, le contrôle de la qualité et l'authentification des vins.

Les méthodes optiques basées sur le phénomène d'absorption de la lumière ont connu des développements importants ces dernières années pour la caractérisation des vins. Il s'agit de la spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge moyen (MIR, longueurs d'onde entre 2 et 30 μm) et le proche infrarouge (NIR, longueurs d'onde entre 0,7 et 3 μm) pour étudier les vibrations moléculaires fondamentales et leurs harmoniques [1-2], et de la spectroscopie d'absorption dans l'UV et le visible (UV-vis) pour sonder les transitions électroniques [3].

La spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge permet d'identifier les molécules à travers leurs vibrations. Du fait de son efficacité, de sa simplicité d'utilisation et du coût modéré de l'équipement, cette technique est aujourd'hui routinière dans les laboratoires d'analyse en chimie. Cependant, pour le cas particulier des vins et plus généralement des solutions aqueuses, la spectroscopie d'absorption infrarouge présente un inconvénient majeur. En effet, le vin est constitué essentiellement (à plus de 95 %) d'eau et d'éthanol. L'absorption des photons par les molécules sera d'autant plus efficace que leurs vibrations engendrent de fortes variations de polarité, ce qui est le cas de l'eau H_2O et des vibrations de l'éthanol $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ impliquant la liaison O-H. Il en résulte que le spectre d'absorption dans l'infrarouge moyen d'un vin sera dominé par les vibrations des molécules d'eau, les vibrations impliquant des liaisons C-H de l'éthanol conduisant à des raies d'absorption considérablement plus faibles. Les absorptions des quelques % de molécules organiques restantes dans la composition d'un vin seront donc négligeables ; il n'y aura pas de différences nettement visibles entre les spectres de différents vins [4]. C'est pourquoi cette méthode analytique est indissociable de la chimométrie qui consiste à analyser les

infimes différences entre les spectres de différents vins par des méthodes statistiques et de les attribuer par la suite à des compositions chimiques supposées car issues d'un modèle [5].

L'analyse Raman offre potentiellement une alternative. Les prodigieux progrès dans les sources et détecteurs de rayonnement conduisent à une miniaturisation et une chute des coûts des spectromètres lasers et à leur emploi grandissant par les douanes, la police scientifique, les personnels effectuant sur site la recette de produits, ou encore la détection de contrefaçons de spiritueux au travers de leur contenant [6]. Des smartphones sont transformés en spectromètres [7]. De plus, en diffusion Raman, la contribution de l'eau est faible. Des techniques d'excitations spécifiques permettent de détecter de nombreuses molécules, en particulier comportant des cycles carbonés, à des concentrations de 10^{-6} g/L ou encore plus faibles. La mise au point de procédures adaptées pourra faciliter le contrôle qualité et identifier des marqueurs spécifiques d'une production vinicole donnée.

La spectroscopie Raman des vins

Les vins sont colorés ; ils contiennent dans leur formulation des molécules absorbant dans le visible. Comme l'eau et l'éthanol, qui constituent les vins à plus de 95 %, sont des fluides transparents, la coloration observée ne peut être due qu'à des molécules en très faible concentration absorbant le rayonnement dans le visible. Par exemple, le vin blanc est jaune, c'est-à-dire qu'il absorbe la lumière violette de longueur d'onde de moins de 400 nm. Le vin rouge absorbe la lumière dans une large gamme du visible, sa couleur dominante perçue par l'œil étant liée à l'absorption de la lumière verte vers 530 nm.

Le choix crucial de la longueur d'onde d'excitation

Ainsi, si on irradie un vin avec une émission laser pouvant être partiellement absorbée, le spectre de fluorescence se

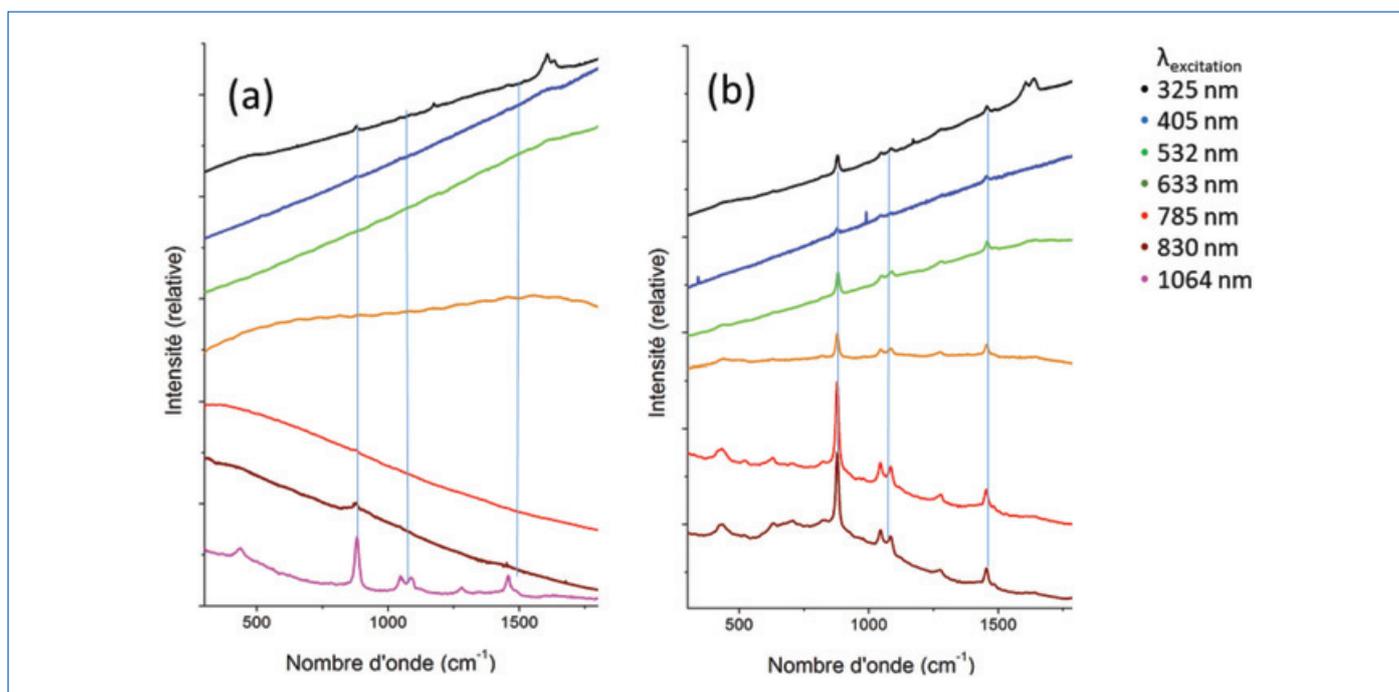


Figure 1 - Spectres d'émission de la lumière (fluorescence et Raman) pour un vin rouge (a) et un vin blanc (b). Les longueurs d'onde d'excitation laser et les couleurs associées aux spectres sont indiquées sur la figure. Les lignes verticales localisent les raies Raman associées à l'éthanol.

superposera, en le masquant le plus souvent, au spectre de diffusion Raman bien plus faible en intensité. La *figure 1a* présente la superposition de plusieurs spectres Raman d'un vin rouge pour différentes valeurs de la longueur d'onde du rayonnement laser incident, allant du proche infrarouge à 1 064 nm au proche UV à 325 nm. Cette figure illustre très simplement pourquoi la spectroscopie Raman n'a jusqu'ici jamais été considérée comme un outil analytique viable pour les vins, c'est-à-dire qu'aucune raie Raman ne peut être distinguée du fond de fluorescence pour des longueurs d'onde d'excitation « conventionnelles » (c'est-à-dire entre 450 et 785 nm). Il faut noter les deux exceptions que sont les spectres enregistrés aux deux extrêmes de la gamme d'excitation laser, c'est-à-dire dans le proche infrarouge à 1 064 nm et le proche UV à 325 nm. Le spectre à 1 064 nm de la *figure 1a*, avec un fond de fluorescence négligeable, est presque à l'identique celui d'un mélange d'eau et d'éthanol (à 12 % volumique) simulant un vin ordinaire, alors que celui à 325 nm présente de nombreuses raies Raman supplémentaires se superposant à la fluorescence [8]. Mais les molécules en faible concentration sont difficilement détectables.

La même expérience a été réalisée pour un vin blanc sec (*figure 1b*). Les conclusions sont globalement similaires avec une excitation dans le proche infrarouge, c'est-à-dire que nous ne voyons que le mélange eau/éthanol, alors qu'avec une excitation à 325 nm, des raies Raman additionnelles sont intenses (en particulier vers 1 600 cm⁻¹). Nous reviendrons plus loin sur ces raies additionnelles.

Ces premiers résultats montrent que le spectre Raman de l'eau est considérablement moins intense qu'en spectroscopie d'absorption infrarouge améliorant le contraste pour l'observation des autres vibrations moléculaires, en particulier celles de l'éthanol. Les spectres obtenus, à l'exception des spectres à 325 nm, restent toutefois très proches de celui d'un simple mélange eau-éthanol de sorte que des méthodes d'analyse statistique restent, comme pour la spectroscopie d'absorption infrarouge, nécessaires.

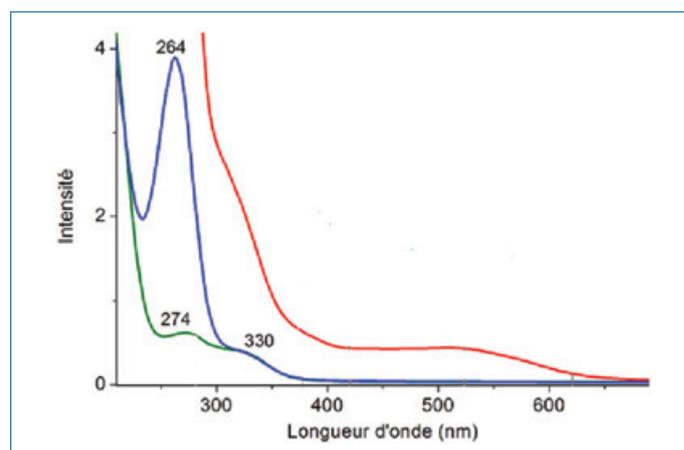


Figure 2 - Spectres d'absorption UV-vis pour un chemin optique de 1 mm des trois vins (rouge : vin rouge ; bleu : vin blanc moelleux ; vert : vin blanc sec).

La diffusion Raman des vins exaltée par effet de résonance électronique

Les spectres d'absorption UV-visible des vins

L'absorption des photons dans le visible et la fluorescence qui en découle sont indissociables (voir encadré). Nous avons reporté sur la *figure 2* les spectres d'absorption UV-visible entre 200 et 700 nm de deux vins blancs et d'un vin rouge. Pour les vins blancs sec et moelleux, nous observons des maxima d'absorption vers 270 et 330 nm, l'échantillon est donc transparent aux photons de longueur d'onde supérieure à 400 nm. Pour le vin rouge, nous observons des absorptions intenses et surtout un fond d'absorption très large entre 400 et 700 nm. Le spectre d'absorption UV-visible des vins est bien connu [9], les maxima d'absorption vers 260 nm sont attribuables aux acides phénoliques, ceux vers 330 nm aux acides hydroxycinnamiques, et enfin le massif large entre 400 et 700 nm aux anthocyanes (qui n'existent en principe pas dans un vin blanc).

Encadré

La diffusion Raman et l'émission de fluorescence

En spectroscopie d'absorption optique, lorsque l'énergie d'un photon correspond à la différence d'énergies entre l'état quantique fondamental d'une molécule et l'un de ses états quantiques excités, un phénomène de résonance (absorption) se produit avec transition de l'état fondamental vers l'état excité. Pour des photons ayant des longueurs d'onde dans l'ultraviolet (UV) ou le visible, les niveaux quantiques impliqués correspondent à des niveaux électroniques. L'excès d'énergie absorbée par la molécule sera dissipé dans le milieu jusqu'à ce qu'elle atteigne le niveau excité de plus basse énergie, puis la molécule irradiée retournera finalement dans son état fondamental en émettant un photon de plus faible énergie que le photon initial. Ce processus d'émission de photon après absorption est la luminescence qui englobe la fluorescence lorsque la « durée de vie » dans l'état électronique excité est relativement brève (quelques dizaines de nanosecondes).

Il y a cependant un autre mécanisme d'interaction lumière-matière provoquant, comme la fluorescence, une émission de photons dans les domaines de l'UV proche, du visible et du proche infrarouge. Ici, les photons incidents (non absorbés) vont forcer les électrons des molécules à osciller autour de leur position d'équilibre et à adopter un état d'énergie supérieur, dit niveau quantique « virtuel », de durée de vie nulle. Le retour à l'état fondamental (instantané) provoque soit la réémission d'un photon de même énergie que le photon incident (diffusion élastique) pour la diffusion Rayleigh, soit la réémission d'un photon d'énergie différente (diffusion inélastique) pour la diffusion Raman. La différence d'énergie entre le photon incident et le photon diffusé inélastiquement (positive pour la diffusion Stokes et négative pour la diffusion anti-Stokes) correspond à la différence d'énergie entre le niveau vibrationnel fondamental et le premier niveau vibrationnel excité. La longueur d'onde du photon émis dépend de la longueur d'onde du rayonnement incident ; en d'autres termes, la différence des longueurs d'onde entre photons incidents et photons émis est constante. Il faut bien distinguer ce mécanisme de diffusion de la lumière de celui de la fluorescence qui nécessite au préalable l'absorption de photons amenant la molécule dans un état électronique excité « réel » et non « virtuel ». Le nombre de photons émis par fluorescence ou par diffusion Rayleigh est très largement supérieur à celui de la diffusion Raman. Pour un milieu coloré, c'est-à-dire intégrant dans sa formulation une fraction de molécules absorbant dans le visible, les deux phénomènes d'émission de la lumière (fluorescence et diffusion inélastique Stokes) peuvent coexister. Lorsque l'intensité de l'émission de fluorescence est modérée, il est possible de la modéliser mathématiquement par une fonction plus ou moins complexe et ainsi de la soustraire du spectre brut.

Identifier les chromophores des vins blancs à l'origine de la diffusion Raman exaltée par effet de résonance

Pour mieux comprendre l'analyse qui va suivre, nous avons reporté *figure 3* le spectre de diffusion Raman, avec une excitation à 532 nm, d'une solution mère contenant de l'eau, de l'éthanol (à 12 % volumique), 5 g/L d'acide tartrique et quelques gouttes d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium dans le but d'ajuster le pH de la solution autour de 3,5 (pH moyen des vins). Cette solution mère, utilisée par la suite pour préparer des solutions modèles, n'absorbe pas la lumière pour des longueurs d'onde supérieures à 200 nm, les spectres Raman de cette solution ne présentent donc aucune fluorescence. Les raies Raman de la solution mère sont, à l'exception des bandes larges vers 3 000-3 500 cm^{-1} (vibrations d'élongation O-H) et vers 2 250 cm^{-1} (vibrations de déformation d'angle H-O-H), toutes attribuées à l'éthanol. C'est ce spectre,

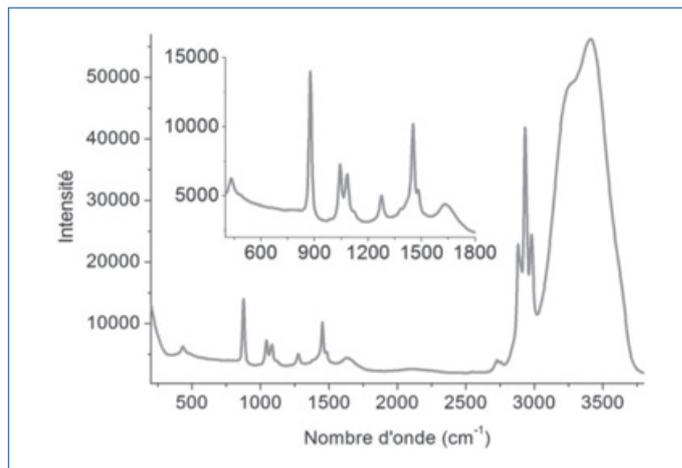


Figure 3 - Spectre de diffusion Raman de la solution mère enregistré avec une excitation laser à 532 nm.

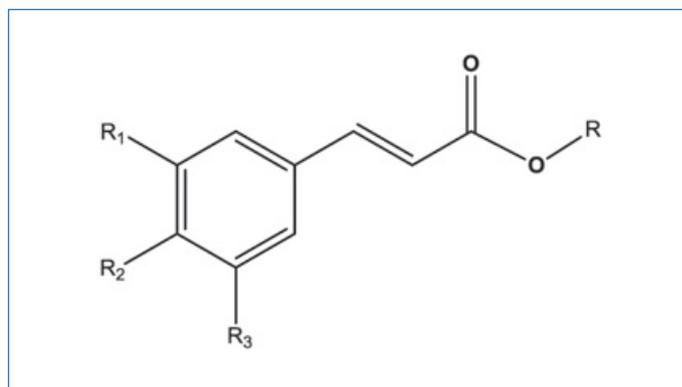


Figure 4 - Acides hydroxycinnamiques.

superposé le plus souvent à un fond de fluorescence, que nous observons qualitativement sur les spectres Raman de la *figure 1* des vins blancs pour des excitations de longueur d'onde supérieures à 400 nm et pour le vin rouge avec une excitation à 1 064 nm. Les spectres Raman des vins enregistrés avec des excitations ne correspondant pas à des raies d'absorption du spectre UV-visible, diffusion Raman que nous qualifierons de « normale », sont donc très proches du spectre de la solution mère ne contenant que de l'éthanol et de l'eau.

À la longueur d'onde d'excitation de 325 nm, qui correspond à l'absorption électronique des acides hydroxycinnamiques [10], nous observons des raies Raman supplémentaires que l'on peut attribuer à de la diffusion Raman de résonance. Il s'agit ici du cas où le niveau quantique « virtuel » se situe au voisinage de niveaux « réels » de l'état électronique excité. Les chromophores impliqués dans les processus d'absorption, de fluorescence et donc dans celui de la diffusion Raman résonante, dont la famille est schématisée sur la *figure 4*, ont été identifiés théoriquement à l'aide de calculs de chimie quantique TD-DFT (« time dependent density functional theory ») et expérimentalement sur la base de solutions modèles des différentes espèces majoritaires d'acides hydroxycinnamiques libres (acide caféique par exemple) ou liés (acide caftarique par exemple) observées dans les vins [10-11]. L'absorption UV-visible ainsi que l'émission de fluorescence sont dues essentiellement aux acides hydroxycinnamiques et plus précisément à la conjugaison du groupement styrène et du groupement benzoïque.

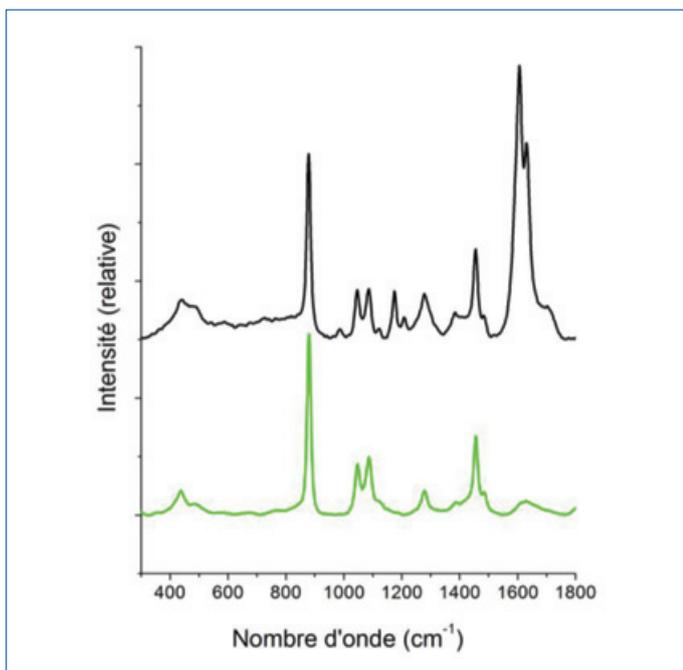


Figure 5 - Spectres Raman après soustraction du fond de fluorescence du vin blanc sec pour les longueurs d'onde 325 nm (noir) et 532 nm (vert).

Les spectres Raman des vins et des solutions modèles montrent que les vibrations intensifiées par effet de résonance ne concernent que les groupements fonctionnels impliqués dans le mécanisme d'absorption électronique [10-11]. La comparaison des spectres Raman d'un vin blanc sec enregistré avec des longueurs d'onde d'excitation de 325 et 532 nm, reportée dans la *figure 5*, illustre bien l'effet d'intensification des raies Raman par effet de résonance. Si les spectroscopies d'absorption UV-visible et de fluorescence ne permettent pas d'identifier, dans un mélange comme le vin, les espèces moléculaires, la diffusion Raman permet en partie cette identification. Les raies vers 1 600-1 700 cm^{-1} sont particulièrement intenses et nous observons dans la plupart des cas deux maxima, le premier pic vers 1 600 cm^{-1} attribué majoritairement aux elongations C=C du cycle phénolique, et le second vers 1 630 cm^{-1} attribué majoritairement aux vibrations d'elongation du groupement styrène $-\text{HC}=\text{CH}-$ de la molécule.

En réalisant une somme pondérée des spectres des solutions modèles d'acides « libres », on peut parvenir à reproduire assez bien le spectre du vin blanc, comme nous pouvons le constater sur la *figure 6*, et ainsi en déduire les concentrations des différentes familles de molécules excitées par la longueur d'onde laser utilisée. Pour ce vin, les espèces majoritaires sont l'acide p-coumarique et l'acide caftarique.

Diffusion Raman exaltée des vins rouges

La formulation d'un vin rouge est beaucoup plus complexe que celle d'un vin blanc. S'il est aussi possible d'exalter les signaux Raman des acides hydrocinnamiques, à l'instar des vins blancs comme le montre la *figure 1a* pour une excitation à 325 nm, leur analyse est cependant plus délicate en raison de la forte intensité de l'émission de fluorescence. Nous ne sommes pas parvenus à exalter les spectres Raman des anthocyanes (dont la malvidine-3-O-glucoside est une molécule prototype) que l'on trouve dans les vins macérés (rouge), l'émission de fluorescence étant toujours beaucoup trop intense. Nous nous sommes alors tournés vers une autre

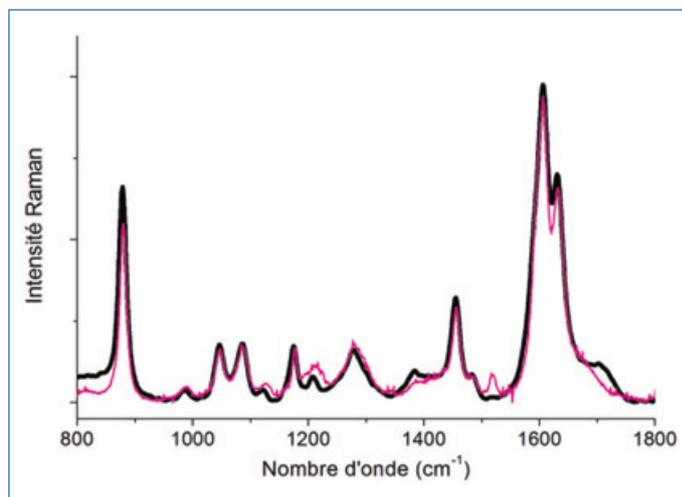


Figure 6 - Spectre Raman à 325 nm du vin blanc sec (noir) et de la somme pondérée des spectres des acides hydrocinnamiques.

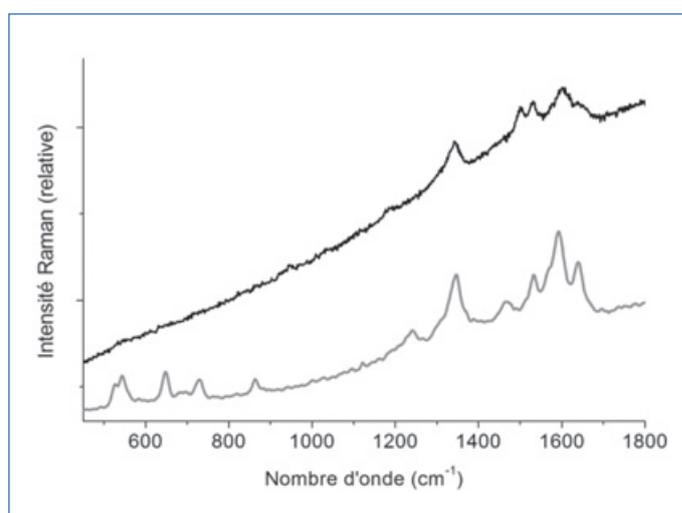


Figure 7 - Spectres SERS d'un vin rouge (noir) et d'une solution modèle de malvidine 3-O-glucoside (gris).

méthode permettant d'amplifier le signal Raman, la technique dite de diffusion Raman exaltée de surface (SERS, « surface enhanced Raman scattering »). Il s'agit ici de préparer un substrat recouvert de nanoparticules d'or ou d'argent en interaction avec l'échantillon analysé. Excitées par le laser à leur maximum d'absorption électronique (c'est-à-dire à la fréquence du plasmon (ou gaz d'électron) se formant à la surface des nanoparticules), les nanoparticules métalliques, en contact avec les molécules analysées, voient le champ électrique généré localement amplifié, ce qui permet d'intensifier considérablement les raies Raman des molécules en interaction.

Nous avons ainsi réalisé un dépôt métallique d'argent [12] dont le maximum de la large bande plasmon est vers 568 nm, énergie correspondant à la région spectrale dans laquelle les dérivés d'anthocyanes absorbent le rayonnement. Nous avons déposé sur ce substrat SERS une goutte de vin rouge irradiée avec un laser à 532 nm. Nous obtenons en quelques secondes un signal Raman très intense avec une puissance laser de quelques dizaines de μW (*figure 7*). Nous avons reporté sur cette même figure le spectre SERS de la solution modèle de malvidine-3-O-glucoside (maximum d'absorption vers 523 nm) à pH acide. Manifestement ces deux spectres

sont proches, avec cependant des différences notables liées au fait que la composition du vin rouge est évidemment bien plus complexe que celle de la solution modèle.

Ces résultats ne sont que très préliminaires, même si l'utilisation de substrats SERS semble prometteuse, et il reste beaucoup à faire avant d'utiliser cette technique à des fins analytiques.

Perspectives

Il est clair que les spectres vibrationnels d'absorption infrarouge ou de diffusion Raman normale des vins, hors résonance électronique ou hors effet SERS, ne permettent pas d'identifier des espèces. En amplifiant considérablement et sélectivement les signatures Raman de certaines molécules inobservables dans d'autres conditions, de nouvelles perspectives s'ouvrent pour l'analyse chimique des vins. D'autres familles moléculaires que les acides hydroxycinnamiques (les acides phénoliques par exemple) sont probablement identifiables par spectroscopie Raman de résonance pour des longueurs d'onde d'excitation inférieures à 325 nm. En ce qui concerne l'emploi de substrats SERS pour analyser les anthocyanes, une difficulté majeure est certainement de pouvoir fabriquer des plateformes identiques permettant de réaliser des expériences répétables et reproductibles. De nombreuses équipes travaillent sur la préparation de substrats SERS [13-14] et de leur production industrielle afin de détecter de très faibles concentrations ou des traces de molécules dans des domaines d'applications très variés allant de l'agro-alimentaire jusqu'au médical. On peut penser que ces progrès bénéficieront aux études du vin.

Ce travail a été soutenu par l'ANRT pour le financement d'une allocation doctorale CIFRE avec la société Advanced Track and Trace, que les auteurs remercient, ainsi que la Région Nouvelle-Aquitaine et la Chambre de Commerce et d'Industrie de Bordeaux pour leur soutien dans ce projet, en particulier à travers le cofinancement des équipements Raman de la plateforme Spectroscopie et Imagerie Vibrationnelle (SIV) de l'Institut des Sciences Moléculaires (ISM).

[1] R. Bauer, H. Nieuwoudt, F.F. Bauer, J. Kossmann, K.R. Koch, K.H. Esbensen, FTIR spectroscopy for grape and wine analysis, *Anal. Chem.*, **2008**, *80*, p. 1371-79.

[2] D. Cozzolino, J. McCarthy, E. Bartowsky, Comparison of near infrared and mid infrared spectroscopy to discriminate between wines produced by different *Oenococcus oeni* strains after malolactic fermentation: a feasibility study, *Food Control*, **2012**, *26*, p. 81-87.

[3] F.J. Acevedo, J. Jiménez, S. Maldonado, E. Domínguez, A. Narváez, Classification of wines produced in specific regions by UV-visible spectroscopy combined with support vector machines, *J. Agric. Food Chem.*, **2007**, *55*, p. 6842-49.

[4] Z. Wu, E. Xu, J. Long, X. Pan, X. Xu, Z. Jin, A. Jiao, Comparison between ATR-IR, Raman, concatenated ATR-IR and Raman spectroscopy for the determination of total antioxidant capacity and total phenolic content of Chinese rice wine, *Food Chem.*, **2016**, *194*, p. 671-679.

[5] C.J. Bevin, A.J. Fergusson, W.B. Perry, L.J. Janik, D. Cozzolino, Development of a rapid "fingerprinting" system for wine authenticity by mid-infrared spectroscopy, *J. Agric. Food Chem.*, **2006**, *54*, p. 9713-18.

[6] P. Brunerie, K. Gouret, B. Fil, S. Verger, J.-L. Bruneel, F. Guillaume, C. Bruneel-Delhay, Portable device for controlling an alcoholic beverage through a container, a system and a method associated thereto, Brevet US 11105743, **2021**.

[7] P. Colombar, V. Pichon, Miniaturisation des outils et des objets d'étude, *L'Act. Chim.*, **2017**, *418-419*, p. 13-16.

[8] C. Martin, J.-L. Bruneel, F. Guyon, B. Médina, M. Jourdes, P.-L. Teissedre, F. Guillaume, Raman spectroscopy of white wines, *Food Chem.*, **2015**, *181*, p. 235-240.

[9] Z.G. Cerovic, A. Ounis, A. Cartelat, G. Latouche, Y. Goulas, S. Meyer, I. Moya, The use of chlorophyll fluorescence excitation spectra for the non-destructive in situ assessment of UV-absorbing compounds in leaves, *Plant Cell Environ.*, **2002**, *25*, p. 1663-76.

[10] C. Martin, J.-L. Bruneel, F. Castet, A. Fritsch, P.-L. Teissedre, M. Jourdes, F. Guillaume, Spectroscopic and theoretical investigations of phenolic acids in white wines, *Food Chem.*, **2017**, *221*, p. 568-575.

[11] C. Martin, La spectroscopie Raman pour la lutte contre la contrefaçon et pour la sécurisation de la filière vin, Thèse, Université de Bordeaux, **2015**.

[12] D. Talaga, S. Bonhommeau, Bare and protected sputtered-noble-metal films for surface-enhanced Raman spectroscopy, *Chem. Phys. Lett.*, **2014**, *615*, p. 89-93.

[13] P. Mandal, B.S. Tewari, Progress in surface enhanced Raman scattering molecular sensing: a review, *Surf. Interfaces*, **2022**, *28*, 101655.

[14] L. Da-Wei, Z. Wen-Lei, L. Yuan-Ting, L. Yi-Tao, Recent progress in surface enhanced Raman spectroscopy for the detection of environmental pollutants, *Microchim. Acta*, **2014**, *615*, p. 89-93.

François GUILLAUME,

Directeur de recherche au CNRS, Institut des Sciences Moléculaires, Groupe Spectroscopie Moléculaire, Université de Bordeaux, Talence.

* francois.guillaume@u-bordeaux.fr

45 **Sc** Culture **iencesChimie**
21

ENS

MINISTÈRE DE L'ÉDUCATION NATIONALE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE

Mis à disposition **CAPES et AGRÉGATION** aux épreuves orales

Site de ressources en **Chimie** pour les enseignants

Thèmes en lien avec les **PROGRAMMES D'ENSEIGNEMENT**
Contenu validé par des **CHERCHEURS**

Articles, Vidéos, Diaporamas
AGENDA, ACTUALITÉS
événements, conférences, parutions scientifiques...

<http://culturesciences.chimie.ens.fr>

Les métalloenzymes artificielles : de la biocatalyse à la médecine

Résumé Dans le cadre d'une chimie verte, respectueuse de l'environnement, les enzymes artificielles constituent des catalyseurs de choix pour la synthèse de produits d'intérêt pour la chimie fine. Deux exemples phares de travaux sur les métallo-Diels-aldérases artificielles sont présentés dans cet article. Le premier évoque les applications envisagées dans la biocatalyse, et le deuxième ouvre de nouvelles perspectives pour les enzymes artificielles en médecine, notamment par la préparation de métallo- β -lactamases artificielles *in vivo*. Une brève revue des complexes biomimétiques des métallo- β -lactamases est également présentée. Ces complexes sont une source d'inspiration pour la préparation des métallo- β -lactamases artificielles visées. Les modifications des ligands de ces complexes qui sont susceptibles de conduire à de meilleures activités sont décrites en conclusion.

Mots-clés Chimie bioinorganique, biomimétisme, métalloenzyme artificielle, cycloaddition de Diels-Alder, β -lactamase.

Abstract Artificial metalloenzymes: prospects from biocatalysis to medical applications

In the context of green chemistry, respectful of the environment, artificial enzymes are catalysts of choice for the synthesis of products of interest for fine chemistry. Herein, two key examples of works on artificial metallo-Diels-alderases are presented. The first evokes future applications in biocatalysis, and the second opens up new perspectives for artificial enzymes in medicine, particularly through the preparation of artificial metallo- β -lactamases *in vivo*. A brief review of the model complexes of natural metallo- β -lactamases follows as these inspire the preparation of the planned artificial metallo- β -lactamases. The modifications of the ligands of these complexes that are likely to lead to better activities are described in conclusion.

Keywords Bioinorganic chemistry, biomimicry, artificial metalloenzyme, Diels-Alder cycloaddition, β -lactamase.

Les métalloenzymes artificielles

La biocatalyse alimente l'évolution de la chimie classique vers une chimie verte et durable. Dans le but de multiplier et de diversifier le potentiel des enzymes utilisées en biocatalyse, les chercheurs ont inventé les enzymes artificielles [1]. Ces dernières, provenant soit de protéines ou d'enzymes dont l'activité a été modifiée et/ou redirigée, soit d'enzymes créées *de novo*, sont des outils de choix pour cette nouvelle ère de la chimie car elles peuvent catalyser, dans des conditions écompatibles, des réactions classiques telles que la réaction d'époxydation, la réaction d'addition de Michael, ou encore la réaction emblématique de cyclisation de Diels-Alder (DA).

Les Diels-aldérases artificielles (DAases)

Le développement des DAases artificielles est particulièrement intéressant car il pourrait combler le manque de DAases naturelles [2]. La réaction de DA modèle sur laquelle se basent les chercheurs pour évaluer les DAases artificielles est la cycloaddition du cyclopentadiène **1** sur la 2-azachalcone **2**. Il a été démontré que, dans l'eau, Cu^{2+} était le cation de choix pour catalyser cette réaction car il active la 2-azachalcone **2** en la coordonnant d'une façon bidente, facilitant ensuite l'attaque du cyclopentadiène **1**, et par conséquent la cycloaddition (figure 1). Les propriétés catalytiques de l'enzyme étudiée (K_M et k_{cat}) peuvent être déterminées par un suivi cinétique de la réaction. De plus, les proportions des quatre stéréo-isomères possibles du produit **3** formé sont contrôlées par les résidus protéiques de l'enzyme artificielle et reflètent ainsi sa sélectivité.

Poussés par l'importance des cycloadditions de DA dans la synthèse chimique et par l'impact positif qu'auraient les DAases

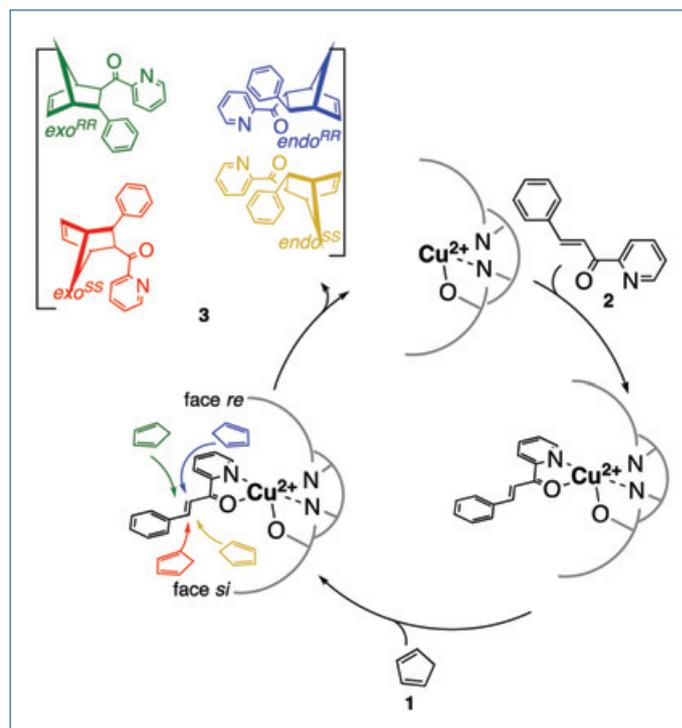


Figure 1 - Mécanisme de la réaction de cycloaddition de Diels-Alder du cyclopentadiène **1** sur la 2-azachalcone **2** catalysée par Cu^{2+} .

sur la chimie verte, nous avons préparé une métallo-DAase artificielle en remplaçant par un Cu^{2+} le Fe^{2+} natif présent au site actif de l'oxydase de l'acide 1-aminocyclopropane carboxylique (ACCO) [3]. En effet, les substrats naturels de l'ACCO, le dioxygène et l'ACC sont de taille comparable à celle de **1** et **2** et, de plus, il est proposé que l'enzyme à Fe^{2+}

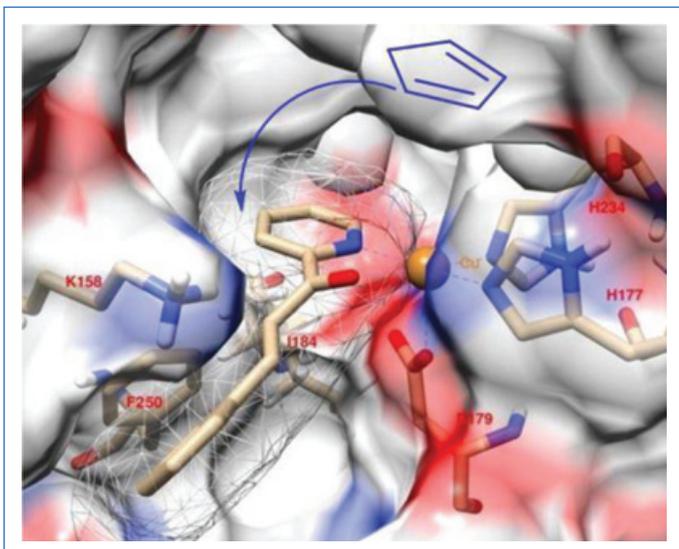


Figure 2 - Modèle obtenu par docking moléculaire montrant le positionnement de la 2-azachalcone **2** au sein de la poche catalytique de l'ACCO-Cu et tracé de la seule voie d'attaque ouverte pour le cyclopentadiène **1**.

coordonne l'ACC d'une façon bidente facilitant ensuite l'attaque de ce substrat par le dioxygène et par conséquent son oxydation. Par la suite, l'enzyme reconstituée avec Cu^{2+} (ACCO-Cu) a été utilisée pour catalyser la cycloaddition de DA. ACCO-Cu s'est avérée être une excellente métallo-DAse [4], conduisant spécifiquement et quantitativement à un produit unique, l'*endo*^{RR}-**3** (TON > 200) avec un $k_{\text{cat app}}$ de 3 h^{-1} , un K_M de $230 \mu\text{M}$ et un $ee > 99\%$. Cette spécificité inédite a pu être expliquée grâce aux études de docking moléculaire effectuées. Ces études ont montré qu'une seule géométrie de coordination de la 2-azachalcone **2** dans le site actif était possible, et qu'un seul chemin d'accès au site actif était alors ouvert au cyclopentadiène **1** pour qu'il réagisse avec la 2-azachalcone **2** coordonnée, menant ainsi au seul isomère *endo*^{RR}-**3** effectivement observé expérimentalement (figure 2). Comme le prouve cet exemple, l'importance des métallo-enzymes artificielles dans la biocatalyse est aujourd'hui indéniable, et leur utilisation dans d'autres applications peut aussi être envisagée.

Les métalloenzymes artificielles *in vivo*

Au-delà de l'utilisation des enzymes artificielles pour la biocatalyse, nous avons visé leur utilisation pour l'ingénierie de voies métaboliques abiologiques dans des cellules vivantes. Nous avons ainsi préparé et caractérisé une métalloenzyme artificielle basée sur le récepteur de l'adénosine $\text{A}_{2\text{A}}$ intégré dans la membrane cytoplasmique de cellules embryonnaires de rein humain vivantes [5]. Pour assembler cette métalloenzyme artificielle à la surface des cellules, la stratégie dite du « cheval de Troie » a été suivie. Cette stratégie consiste à fixer, grâce à sa haute affinité pour le récepteur, un antagoniste lié de manière covalente au complexe 1,10-phénanthroline de Cu^{2+} via un espaceur court ou un espaceur long (**4a-b**, figure 3). L'affinité du récepteur pour les conjugués préparés a ensuite été évaluée par compétition avec un radioligand et des constantes de l'ordre du nanomolaire – similaires à celles de l'antagoniste initial – ont pu être mesurées. Les cellules exprimant le récepteur de l'adénosine $\text{A}_{2\text{A}}$ ont également été mises en présence d'un fluorophore lié de manière covalente à un antagoniste de ce récepteur. Les

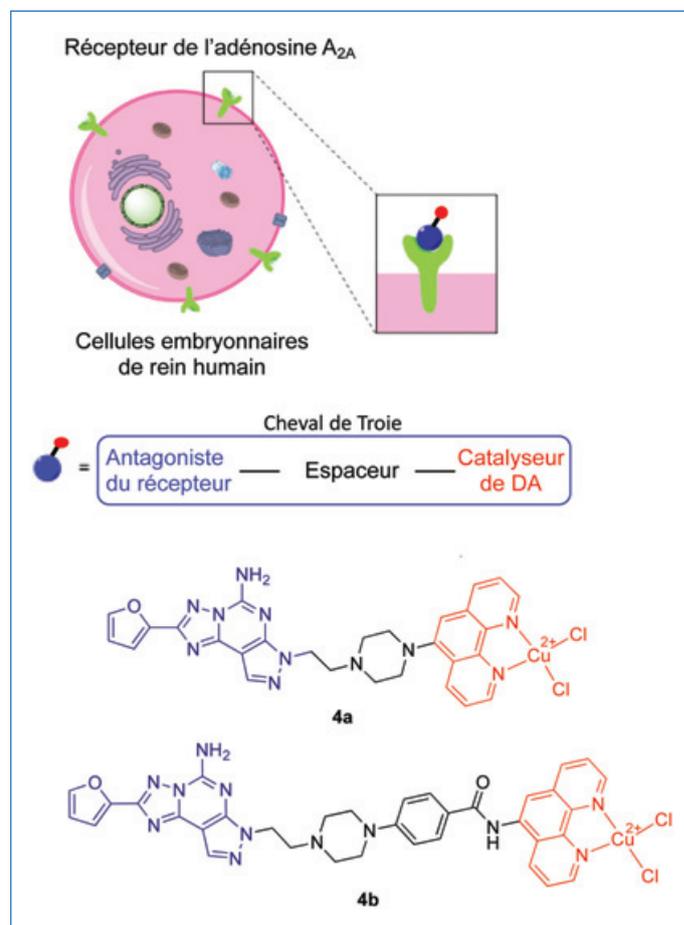


Figure 3 - Métallo-DAses artificielles assemblées à la surface de cellules humaines vivantes par ancrage de conjugués antagoniste-complexe de cuivre dans le récepteur de l'adénosine $\text{A}_{2\text{A}}$ exprimé dans la membrane de ces cellules.

images par microscopie de fluorescence montrent que les membranes de ces cellules deviennent fluorescentes contrairement à celles de cellules n'exprimant pas ce récepteur, confirmant la liaison du conjugué fluorophore-antagoniste au récepteur de l'adénosine (figure 4). Le construit s'est montré stable après trois jours à 4°C indiquant que le temps de résidence des conjugués dans le récepteur était supérieur à trois jours.

L'addition des conjugués **4a-b** aux cellules exprimant le récepteur de l'adénosine $\text{A}_{2\text{A}}$ a permis l'assemblage à leur surface des enzymes artificielles qui ont ensuite pu être utilisées pour catalyser la cycloaddition de DA de **1** sur **2**. Les résultats ont révélé qu'aucune sélectivité n'était observée avec le conjugué le plus long (**4b**), suggérant que le complexe de cuivre se trouvait à l'extérieur de la poche de liaison du récepteur. Avec le conjugué le plus court (**4a**), un ee de 28 % a été observé en faveur du produit *endo*-**3**^{RR}, indiquant que, dans ce cas, la métallo-DAse artificielle avait bien été assemblée au niveau du récepteur – le complexe de cuivre se trouvant dans ce cas dans la poche du récepteur – et qu'elle était fonctionnelle, dotant ainsi les cellules vivantes d'une activité abiologique. Ce résultat conceptualise des perspectives médicales pour ces enzymes artificielles. En effet, leur activité pourrait servir pour générer des médicaments ou des sondes pour le diagnostic directement dans l'organisme, et ceci, d'une façon bioorthogonale.

À cet égard, notre stratégie consiste à cibler un récepteur membranaire exprimé spécifiquement à la surface de cellules d'un organe affecté pour le transformer en une enzyme

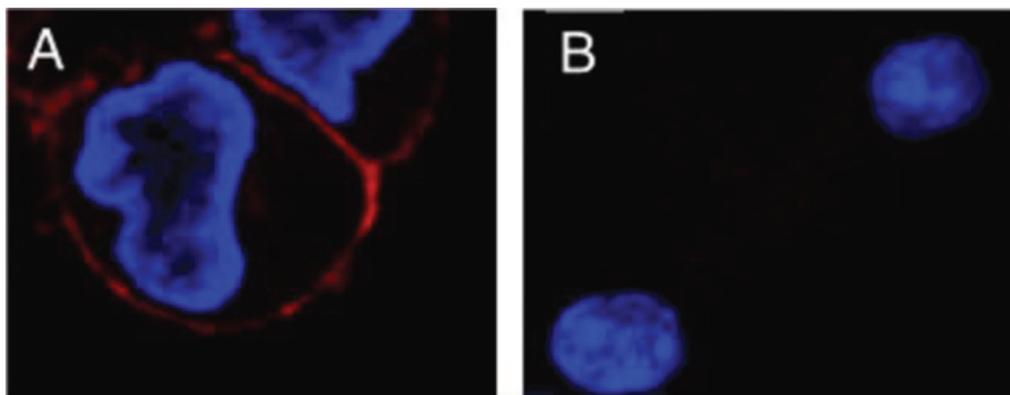


Figure 4 - Microscopie de fluorescence de cellules embryonnaires de rein humain vivantes exprimant (A) et n'exprimant pas (B) le récepteur de l'adénosine A_{2A} après incubation avec un colorant du noyau, Hoechst 33342 (bleu), et avec un antagoniste de A_{2A} lié de manière covalente au fluorophore BODIPY (rouge).

artificielle capable d'y activer une prodrogue ou prosonde de diagnostic. Les β -lactamines telles que la pénicilline sont des antibiotiques stables dans le corps humain essentiellement parce qu'aucune enzyme humaine capable de catalyser leur hydrolyse n'est connue à ce jour. Ainsi, concevoir un médicament masqué par un β -lactame en une prodrogue, qui ne serait activable que par une enzyme artificielle présentant une activité β -lactamase préparée *in situ* dans l'organe affecté, apparaît comme une piste séduisante pour libérer le médicament spécifiquement au niveau de l'organe visé. Les bactéries résistantes aux β -lactamines possèdent quant à elles des β -lactamases naturelles. Des complexes biomimétiques de ces enzymes liés avec des antagonistes de récepteurs ciblés pourraient donc conduire à l'assemblage de β -lactamases artificielles à la surface des cellules de l'organe affecté. Néanmoins, tous les complexes biomimétiques des β -lactamases connus à ce jour sont peu actifs. Notre premier but est donc d'améliorer l'activité de ces complexes en les modifiant pour mieux mimer les β -lactamases naturelles.

Les complexes biomimétiques des métallo- β -lactamases (M β L)

L'équipe d'Eiichi Kimura a synthétisé en 1991 le complexe de zinc **1c** comportant un ligand tétradentate apportant une sphère de coordination du métal différente de celle à trois ligands du zinc des M β L mononucléaires [6] (figure 5). Ce complexe s'est avéré peu efficace dans la catalyse de l'hydrolyse de la benzylpénicilline **1s** (figure 5), probablement parce que dans ce complexe, Zn^{2+} ne possède pas de site de coordination vacant pour se lier au substrat.

L'équipe de Heinrich Vahrenkamp a préparé les complexes de tris(3-arylpyrazolyl)borate de zinc **2c** et **3c** [7] (figure 5) et ont montré que ces complexes étaient capables de catalyser l'hydrolyse du monobactame **2s** [8] (figure 5), mais avec une cinétique lente, avec un k_{cat} de l'ordre d'un tour par minute. Ceci est probablement causé par l'encombrement stérique autour du zinc, qui se retrouve peu accessible au substrat, même si le monobactame **2s** choisi est un β -lactame relativement peu encombrant.

L'équipe de Frank Meyer a synthétisé les complexes dinucléaires de zinc **4c-7c** [9] (figure 5) et a étudié leur activité β -lactamase à l'encontre de la benzylpénicilline **1s** (figure 5). Comme indiqué par les auteurs, la coordination du substrat

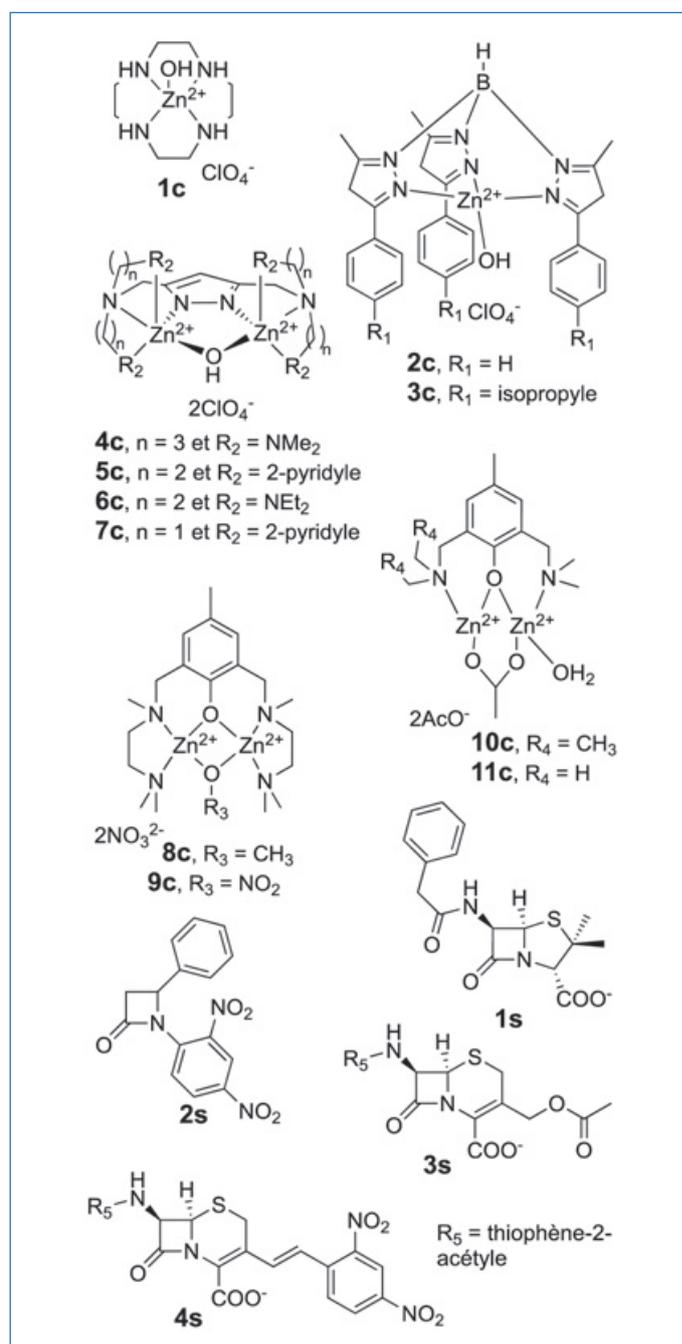


Figure 5 - Complexes mono- et dinucléaires utilisés pour mimer les M β L. Les β -lactames **1-4s** sont utilisés comme substrats modèles.

précédant son hydrolyse nécessiterait la décooordination d'un des ligands amine et, de plus, une distance inter-zinc judicieuse serait importante pour rendre cette coordination possible. Les complexes **5c** et **7c** comportant des ligands pyridine n'étaient pas actifs probablement car la pyridine est difficile à décoordonner, ce qui empêche la coordination du substrat. L'analyse des structures cristallines des complexes a permis de mesurer les distances inter-zinc dans chacun des quatre complexes : $Zn \cdots Zn = 3,61 ; 3,47 ; 4,41$ et $4,15$ Å respectivement pour les complexes **4c-7c**. L'état de l'art actuel nous permet de comparer ces distances à celles observées dans les nombreuses structures cristallines de MβL dinucléaires. Celles-ci varient entre $3,10$ et $3,51$ Å, ce qui suggère que les complexes **4c** et **7c** constituent les meilleurs mimes structuraux de MβL. Le complexe **4c** est effectivement apparu comme le catalyseur le plus actif ; néanmoins la cinétique observée était lente, avec, là-aussi, un k_{cat} de l'ordre d'un tour par minute.

L'équipe de Stephen Lippard a synthétisé plusieurs complexes dinucléaires de zinc et analysé leurs structures cristallines [10-12]. Les distances inter-zinc $Zn \cdots Zn = 3,10$ et $3,29$ Å mesurées respectivement pour les complexes **8c** et **9c** sont comparables à celles retrouvées dans les MβL (figure 5). La fixation de la benzylpénicilline **1s** et celle de la céphalotine **3s** sur ces complexes a aussi été étudiée par spectroscopies RMN ^{13}C et IR. Ces études appuient l'hypothèse selon laquelle les pénicillines et les céphalosporines se lient aux Zn^{2+} par l'oxygène du groupement carboxylate. Les auteurs ont ensuite étudié les réactions d'hydrolyse de la nitrocéfine **4s** catalysées par ces complexes. Ces réactions se sont avérées jusqu'à 1 000 fois plus rapides que celles catalysées par les complexes précédents. Ces résultats témoignent qu'une distance inter-zinc de $3,10$ à $3,51$ Å et qu'une disponibilité d'un site de coordination sur le zinc pour coordonner le substrat sont deux paramètres importants pour l'activité β-lactamase. Plus récemment, l'équipe de Camilla Abbehausen a conçu les complexes **10c** et **11c** composés de ligands tridentates [13] (figure 5). Dans ces complexes, la sphère de coordination des Zn^{2+} est constituée par les deux atomes d'azote de deux groupements amine et l'oxygène d'un phénolate, et est complétée par des acétates. Ces derniers sont supposés s'échanger dans l'eau avec des ions hydroxyde. La structure cristallographique montre une distance inter-zinc de $3,12$ Å, mais une faible activité β-lactamase à l'encontre de la nitrocéfine **4s** a cependant été observée. Ces complexes présentent deux sites de coordination vacants par Zn^{2+} , ce qui pourrait permettre la coordination de plusieurs molécules de substrat sur le complexe, aboutissant ainsi à la décomplexation des cations Zn^{2+} et à la perte de l'activité.

Limites des modèles actuels

Les études des complexes mononucléaires (*vide supra*) suggèrent que les MβL mononucléaires sont capables de coordonner le substrat et un ion hydroxyde sur le zinc. Les structures cristallines de MβL mononucléaires suggèrent également la coordination du substrat et montrent que la molécule d'eau réactive engage deux liaisons hydrogène avec un résidu aspartate et un résidu histidine la rendant plus nucléophile, mais sans coordination par le zinc (figure 6A). Les études des complexes mimes des MβL dinucléaires suggèrent quant à elles la coordination du substrat aux deux cations de zinc, et ensuite son attaque par un ion hydroxyde pontant les

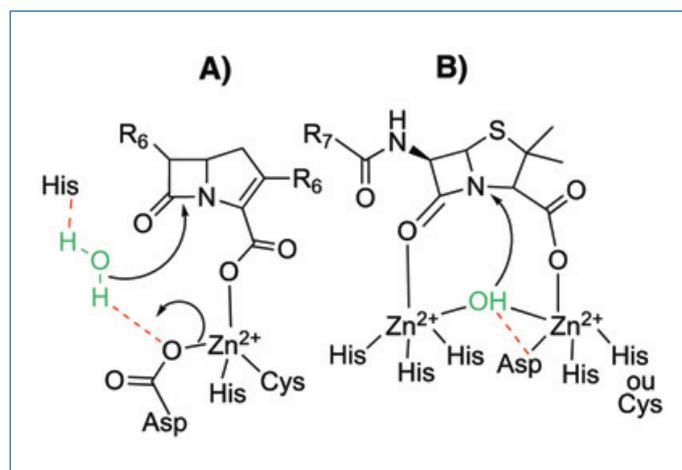


Figure 6 - Site actif de MβL mononucléaires (A) et dinucléaires (B) lié avec un substrat β-lactame.

deux Zn^{2+} . Les structures cristallines de MβL dinucléaires sont en accord avec ces conclusions, mais suggèrent de plus que l'ion hydroxyde réactif serait aussi lié à un résidu acide aspartique par une liaison hydrogène le rendant encore plus nucléophile (figure 6B).

Il est donc notable que les complexes biomimétiques des MβL sont des complexes fonctionnels qui imitent l'activité hydrolytique de ces enzymes mais négligent des caractéristiques structurales enzymatiques sûrement très importantes pour aboutir à une meilleure activité. En effet, aucun complexe modèle ne comprend un ion hydroxyde rendu plus nucléophile grâce à des liaisons hydrogène avec la deuxième sphère de coordination de Zn^{2+} , comme observé chez les MβL dinucléaires. La conception de tels complexes est donc nécessaire pour étudier l'impact de ces liaisons hydrogène sur l'activité.

De plus, les sites actifs des MβL dinucléaires comportent des ligands tels que des fonctions imidazole (histidine), thiol (cystéine) et acide carboxylique (acide aspartique) liés aux deux Zn^{2+} qu'ils maintiennent à une distance inter-zinc de $3,1$ à $3,8$ Å. Certains des complexes modèles de ces sites actifs rapportés jusqu'à maintenant miment bien la distance inter-zinc mais comportent majoritairement des ligands azotés avec un seul exemple comportant des ligands oxygénés (*vide supra*). D'autres complexes modèles comportant des ligands variés sont donc nécessaires pour élucider le rôle de la nature du ligand du zinc sur l'activité.

Enfin, des complexes qui à la fois présentent une distance inter-zinc similaire à celles observées dans les MβL, comportent des ligands variés comme observé dans les MβL et sont capables d'activer par liaison hydrogène un ion hydroxyle coordonné aux Zn^{2+} , permettraient de comprendre l'importance de chacun de ces éléments et de leur combinaison dans l'activité hydrolytique, et aideront par la suite à concevoir de meilleures mimes de MβL qui pourraient enfin servir au développement d'applications thérapeutiques des métalloenzymes artificielles.

La synthèse de complexes de zinc présentant ces caractéristiques constitue un prérequis incontournable pour l'élaboration *in vivo* de métalloenzymes artificielles possédant une activité β-lactamase conséquente et suffisante pour constituer la base de nouveaux outils thérapeutiques basés sur l'hydrolyse de prodrogues et/ou de prosondes possédant un cycle β-lactame.

[1] J. C. Lewis, T.R. Ward *et al.*, Artificial metalloenzymes: reaction scope and optimization strategies, *Chem. Rev.*, **2018**, *118*(1), p. 142-231.

[2] W. Ghattas, J.-P. Mahy, M. Réglie, A.J. Simaan, Artificial enzymes for Diels-Alder reactions, *ChemBioChem*, **2021**, *22*(3), p. 443-459.

[3] W. Ghattas, A.J. Simaan, J.-P. Mahy *et al.*, Cu^{II}-containing 1-aminocyclopropane carboxylic acid oxidase is an efficient stereospecific Diels-alderase, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, *58*(41), p. 14605-609.

[4] W. Ghattas, A.J. Simaan, J.-P. Mahy *et al.*, Cu^{II}-containing 1-aminocyclopropane carboxylic acid oxidase is an efficient stereospecific Diels-alderase, *Angew. Chem.*, **2019**, *131*(41), p. 14747-751.

[5] W. Ghattas, J.-P. Mahy *et al.*, Receptor-based artificial metalloenzymes on living human cells, *J. Am. Chem. Soc.*, **2018**, *140*(28), p. 8756-62.

[6] T. Koike, M. Takamura, E. Kimura, Role of Zinc(II) in β -lactamase II: a model study with a zinc(II)-macrocyclic tetraamine (1,4,7,10-tetraazacyclododecane, cyclen) complex, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*(19), p. 8443-49.

[7] H. Vahrenkamp, Transitions, transition states, transition state analogues: zinc pyrazolylborate chemistry related to zinc enzymes, *Acc. Chem. Res.*, **1999**, *32*(7), p. 589-596.

[8] F. Gross, H. Vahrenkamp, Reactions of pyrazolylborate-zinc-hydroxide complexes related to β -lactamase activity, *Inorg. Chem.*, **2005**, *44*(12), p. 4433-40.

[9] B. Bauer-Siebenlist, S. Dechert, F. Meyer, Biomimetic hydrolysis of penicillin G catalyzed by dinuclear zinc(II) complexes: structure-activity correlations in β -lactamase model systems, *Eur. J. Chem.*, **2005**, *11*(18), p. 5343-52.

[10] N.V. Kaminskaia, B. Spingler, S.J. Lippard, Hydrolysis of β -lactam antibiotics catalyzed by dinuclear zinc(II) complexes: functional mimics of metallo- β -lactamases, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*(27), p. 6411-22.

[11] N.V. Kaminskaia, C. He, S.J. Lippard, Reactivity of μ -hydroxodizinc(II) centers in enzymatic catalysis through model studies, *Inorg. Chem.*, **2000**, *39*(15), p. 3365-73.

[12] N.V. Kaminskaia, B. Spingler, S.J. Lippard, Intermediate in β -lactam hydrolysis catalyzed by a dinuclear zinc(II) complex: relevance to the mechanism of metallo- β -lactamase, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*(27), p. 6555-63.

[13] L.G. Ferrarasso, C. Abbehausen *et al.*, Copper(II) and zinc(II) dinuclear enzymes model compounds: the nature of the metal ion in the biological function, *J. Mol. Struct.*, **2017**, *1150*, p. 316-328.

Morane BEAUMET, doctorante, **Wadih GHATTAS***, chargé de recherche au CNRS, et **Jean-Pierre MAHY**, professeur, Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay (ICMMO), Université Paris-Saclay.



W. Ghattas

Wadih GHATTAS a reçu la Médaille de bronze du CNRS en 2021.

* wadih.ghattas@universite-paris-saclay.fr



ERBAdry®: SOLVANTS ANHYDRES "Made in France"

Bouchons et septa nouvelle génération développés par CARLO ERBA Reagents pour des solvants secs plus longtemps et une ergonomie améliorée :



- 3 larges surfaces de piquage pour faciliter les manipulations
- Inertie chimique assurée par le septum double couche
- Toujours prêt à être refermé grâce au capuchon solide du bouchon
- Deux bagues d'inviolabilité : double garantie d'un flacon non ouvert
- Disponible en 100ml et 1l, sans tamis moléculaire

La gamme s'est agrandie !
Retrouvez tous les solvants ERBAdry®
sur notre site internet :

www.carloerbareagents.com



Prix et distinctions



Marc Mauduit, prix Minafin de l'Académie des sciences

Le prix Minafin de l'Académie des sciences distingue chaque année un chimiste ayant été particulièrement actif dans le domaine des innovations liées à la chimie organique en harmonie avec le développement durable*.

Les travaux de Marc Mauduit, directeur de recherche CNRS à l'École nationale supérieure de chimie de Rennes et membre de l'Institut des sciences chimiques de Rennes, se situent dans le domaine de la catalyse organométallique pour une chimie durable. Il s'intéresse notamment à la conception de ligands ancillaires carbéniques innovants, aisément accessibles et modulables, qui confèrent aux métaux de transition des propriétés inédites. Son équipe développe ainsi des procédés catalytiques éco-efficaces capables de transformer la biomasse en molécules d'intérêt ou de produire des édifices moléculaires complexes contenant divers motifs chiraux.

*Voir *L'Act.Chim.*, 478, p. 48.

Recherche et développement

Une technologie pour « voir » dans les batteries commerciales



Batterie traversée par une fibre optique en verre de chalcogénure permettant de transporter de la lumière dans le domaine infrarouge. L'interaction de cette lumière avec les constituants de la batterie permet d'identifier et de suivre les molécules chimiques présentes autour de la fibre. © Frédérique PLAS/CSE/CNRS Photothèque.

Les batteries offrent la capacité de stocker de l'énergie sous forme chimique : lors de la charge, le courant force des réactions chimiques et l'énergie se stocke, puis lors de la décharge une réaction électrochimique spontanée engendre le déplacement inverse des électrons dans le système. L'énergie est libérée pour créer un courant électrique. Contrôler et étudier la chimie d'une batterie est donc crucial pour comprendre son fonctionnement, mais aussi améliorer sa conception. Si l'exercice est aisé en laboratoire, il l'est beaucoup moins lorsqu'elle est intégrée dans un système. Une équipe de recherche multidisciplinaire* dirigée par des scientifiques du Laboratoire Chimie du solide et de l'énergie (CNRS/ Collège de France/Sorbonne Université) vient de mettre au

point une méthode pour suivre l'évolution de la chimie d'une batterie commerciale, en direct, au cours de sa charge ou de sa décharge. La technologie repose sur le transport de la lumière infrarouge dans des fibres optiques en verre de chalcogénure placées à travers une batterie. L'interaction de cette lumière avec les constituants de la batterie permet d'identifier et de suivre les molécules chimiques présentes autour de la fibre. Les chercheurs ont ainsi pu observer l'évolution des électrolytes ainsi que l'insertion/extraction des ions sodium-lithium dans les électrodes en fonction de la charge. Et cela alors qu'elle était en cours d'utilisation, une première ! Avec ce système, les scientifiques ont également pu étudier l'interface entre l'électrolyte et le matériau d'électrode négative appelée « solid electrolyte interphase » (SEI). Cette couche à la fois conductrice d'ions et isolante des électrons détermine la longévité des batteries. L'équipe a notamment pu suivre *in situ* la nature des espèces chimiques participant à la nucléation et à la croissance de la SEI qui se met en place lors de la toute première charge d'une batterie.

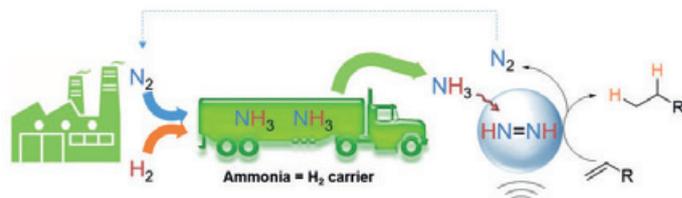
D'un point de vue pratique, ces résultats ouvrent la voie vers une conception facilitée et améliorée des batteries. Actuellement, l'optimisation des électrolytes et protocoles tests de charge est longue pour trouver la meilleure option pour une SEI idéale, et ainsi améliorer la longévité d'une batterie. Avec cette nouvelle méthode inédite, il est possible de voir rapidement et précisément comment chaque élément de la recette évolue, interagit avec les autres et influence les performances de la batterie. L'équipe de recherche poursuit ses travaux en se concentrant sur la SEI et espère pouvoir révéler tous ses secrets.

*Source : CNRS, 07/11/2022.

Réf. : J.-M. Tarascon *et al.*, Unlocking cell chemistry evolution with in-operando fiber optic IR spectroscopy in commercial Na(Li)-ion batteries, *Nature Energy*, 2022, DOI:10.1038/s41560-022-01141-3

*En France, ces recherches ont également impliqué des équipes de l'Institut des sciences chimiques de Rennes (ISCR, CNRS/École nationale supérieure de chimie de Rennes/Université Rennes 1) et de l'Institut Charles Gerhardt Montpellier (ICGM, CNRS/École nationale supérieure de chimie de Montpellier/Université de Montpellier). Elles ont été menées dans le cadre du Réseau sur le stockage électrochimique de l'énergie (RS2E).

Un procédé à base d'ultrasons pour éviter les catalyseurs métalliques



Un nouveau procédé qui utilise les ultrasons permet l'hydrogénation d'alcènes en alcanes à température ambiante et sans catalyseur en partant de l'ammoniac et avec comme seul co-produit de l'azote. © François Jérôme.

La transformation d'alcènes en alcanes par hydrogénation sélective de doubles liaisons carbone-carbone est l'une des réactions fondamentales pour la synthèse et la fabrication de produits chimiques en industrie. Les procédés actuels utilisent pour cela de l'hydrogène sous pression et souvent des catalyseurs à base de métaux rares comme le palladium, le platine ou le ruthénium. Dans le contexte actuel où l'ammoniac NH_3 est à présent considéré comme le futur vecteur d'hydrogène,

un nouveau défi sociétal majeur serait de réaliser des réactions d'hydrogénation directement au départ d'ammoniac et dans des conditions douces, plutôt que de passer par l'étape de formation et utilisation d'hydrogène. Cependant, l'utilisation de l'ammoniac dans ces réactions nécessite de surmonter des verrous scientifiques importants, notamment l'activation de la liaison N-H qui est très robuste. Cette liaison est très souvent activée par des catalyseurs, mais elle nécessite des conditions sévères de pression et de température peu compatibles avec la stabilité des alcènes à réduire.

Dans ce contexte, une équipe de chimistes de l'Institut de chimie des milieux et matériaux de Poitiers (CNRS/Université de Poitiers), de l'Institut de chimie séparative de Marcoule (CNRS/CEA/École nationale supérieure de chimie de Montpellier) et du laboratoire international de recherche Eco-Efficient Products & Processes Laboratory (CNRS/Rhodia Operations) a récemment proposé de substituer cette activation catalytique de l'ammoniac par une activation ultrasonore à haute fréquence. Lors de l'irradiation ultrasonore d'une solution aqueuse d'ammoniac, des bulles de cavitation se forment. Ces bulles, où règnent des conditions de pression et de température très élevées ($> 5\ 000\ \text{K}$, $> 100\ \text{bar}$), agissent comme des microréacteurs pour l'activation du NH_3 . En présence d'un alcène comme le n-octène, cette activation *in situ* initie l'hydrogénation des doubles liaisons dans l'eau, avec comme seul co-produit de l'azote. Si, à l'intérieur des bulles, il existe des conditions extrêmes de température et de pression, le milieu réactionnel peut quant à lui être maintenu proche de l'ambiante, ce qui évite la dégradation des alcènes.

Par rapport aux procédés classiques, cette technologie permet de réaliser l'hydrogénation des alcènes en alcanes en l'absence de catalyseur et d'hydrogène, le tout « simplement » en utilisant de l'ammoniac et une onde ultrasonore. Avec le dégagement de N_2 comme seul coproduit, ce sont les avantages notables de ce procédé.

• Source : CNRS, 08/11/2022.

Ref. : A. Humblot, T. Chave, P.N. Amaniampong, S. Streiff, F. Jérôme, Sonochemically-induced reduction of alkenes to alkanes with ammonia, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2022, <https://doi.org/10.1002/anie.202212719>

Industrie

Les lauréats du prix Pierre Potier 2022

Créé en 2006 avec le ministère de l'Économie, des Finances et de l'Industrie et porté aujourd'hui par la Fondation de la Maison de la Chimie et France Chimie, le prix Pierre Potier a pour objectif d'encourager les innovations des entreprises de la chimie en faveur du développement durable et de favoriser les démarches écoresponsables.

Voici les lauréats de la 15^e édition :

- **Trophée à Solvay** pour le développement d'Alve-One® Solutions, une génération d'agents moussants pour les plastiques, performants, compétitifs, qui se différencient par une empreinte environnementale plus favorable et le fait qu'ils ne présentent pas de risque d'exposition pour les utilisateurs, tout au long de la chaîne de valeurs. Alve-One® Solutions vise une large gamme d'applications parmi lesquelles le bâtiment et la construction (revêtements de sols, papiers peints, décoration), l'automobile (simili cuir, panneaux intérieurs), le domaine des chaussures. Ces formulations conviennent à la plupart des thermoplastiques actuellement expansés.



- **Médaille à Arkema** et sa filiale **Bostik** pour le développement de l'UHP 200, un système adhésif modulaire pour emballages alimentaires, répondant aux diverses exigences du marché : adhésion sur tous types de substrat flexible, résistance à la pasteurisation, à la stérilisation et à l'emboutissage. Ce système modulaire peut être combiné à différents durcisseurs (Purbinder C1, C10 et CX) afin de répondre aux exigences du marché.

- **Médaille à SurfactGreen** pour le développement de Cosme-Green, un tensioactif cationique 100 % d'origine naturelle, non toxique et biodégradable, performant et écoresponsable pour une cosmétique plus « verte ». Ces tensioactifs sont largement utilisés pour les produits de soin capillaire (après-shampooings et shampooings 2 en 1).

Prix Pierre Potier des lycéens

Pour la 4^e année, France Chimie et le ministère de l'Éducation nationale et de la Jeunesse ont décerné un prix Pierre Potier des lycéens, avec le soutien de la Fondation de la Maison de la Chimie et du Réseau des Jeunes Chimistes de la Société Chimique de France (RJ-SCF). Près de 8 000 jeunes de 300 classes ont étudié les dossiers de onze entreprises candidates et voté en faveur de leur projet favori à l'issue d'une séance de débats et d'échanges en classe en présence d'un représentant de l'industrie ou d'un chercheur académique*.

- **Trophée à HIPERSSYS** (High Power & Energy Rechargeable Storage Systems), pour le développement de batteries rechargeables nouvelle génération et éco-responsables. HIPERSSYS développe des batteries lithium/soufre et silicium/soufre dont l'énergie théorique est au moins cinq fois supérieure à celle des batteries Li-ion commerciales actuelles.

• Source : France Chimie, 27/10/2022.

*www.francechimie.fr/les-6-projets-nomines-du-prix-pierre-potier-des-lyceens-2022

Agenda

17-18 janvier 2023

SOFIE 2

2nd Summit of the organic and organo-mineral fertilisers industries in Europe

Bruxelles (Belgique) & online

www.phosphorusplatform.eu/SOFIE2023

17-19 janvier 2023

SIVAL 2023

Salon international des techniques de productions végétales

Angers

www.sival-angers.com

22-27 janvier 2023

POLY-CHAR 2023

World forum on advanced materials and short course on polymer characterization

Auckland (Nouvelle Zélande)

www.poly-char2023.org

26-27 janvier 2023

AFA 2023

12^e Journées de l'Association Française de l'Adsorption

Nancy

www.adsorption.fr

31 janvier 2023

Sciences et médias

Paris

Voir p. 70.

<http://sciencesetmedias.org>

1-2 février 2023

Hyvolution 2023

Paris

<https://paris.hyvolution.com/fr>

8 février 2023

Chimie et intelligence artificielle

Paris

Dans le cadre des colloques « Chimie et... ».

<https://actions.maisondelachimie.com/colloques/chimie-et>

10-11 février 2023

20^e Village de la chimie, des sciences de la nature et de la vie

Paris

www.villagedelachimie.org

7-10 mars 2023

CIM 2023

21^e congrès international de métrologie
Lyon

www.cim2023.com/fr

14-17 mars 2023

ICCP 2023

15th IUPAC international congress of crop protection chemistry

New Delhi (Inde)

www.iupac2023.in

15-17 mars 2023

C'Nano 2023

The nanoscience meeting

Poitiers

www.insis.cnrs.fr/fr/evenement/cnano-congress-meeting-2023

19-22 mars 2023

34th Topical meeting of the International Society of Electrochemistry

Mar del Plata (Argentine)

<https://topical34.ise-online.org>

20-21 mars 2023

European congress on chemistry and applied sciences

Rome (Italie)

<https://scisynopsisconferences.com/chemistry>

20-23 mars 2023

ECNS 2023

8th European conference on neutron scattering

Garching (Allemagne)

<https://indico.frm2.tum.de/event/263>

22-23 mars 2023

Polymers materials in sports & leisure

Lille

www.sfp-plastic.org/evenements/2856

26-30 mars 2023

ACS spring meeting

Indianapolis (E.-U.) & online

www.acs.org/content/acs/en/meetings.html

28-30 mars 2023

Forum Labo 2023

Paris

www.forumlabo.com/paris/fr-fr.html

28-30 mars 2023

SEP 23

15^e Congrès de l'Association Francophone des Sciences Séparatives

Paris

www.sep2023.fr

28-31 mars 2023

28th HSKIKI

Croatian meeting of chemists & chemical engineers

Rovinj (Croatie)

www.euchems.eu/events/28th-croatian-meeting-of-chemists-chemical-engineers

7-11 mai 2023

56th Bürgenstock conference

SCS conference on stereochemistry

Brunnen (Suisse)

<https://bc23.scg.ch>

5-6 juin 2023

44^e Congrès mondial de la vigne et du vin

Jerez (Espagne)

www.oiv.int/fr/medias/agenda

GWB
Feb. 14th 2023
GWB 2023
Breaking Barriers in Science
iupac.org/gwb

En direct du Bureau

Membres distingués 2022

Le titre de « Membre distingué » récompense chaque année des membres de la SCF présentant des qualités et un profil précieux pour l'association. Il est attribué par le Conseil d'administration après propositions des entités de la SCF (divisions scientifiques, sections régionales) et validation par le Bureau.

Membres distingués seniors

Vincent Artero, Anna Proust, Patrice Malfreyt, Corinne Gosmini, Marc Lemaire, Katia Fajerweg, Elisabeth Lojou, Pascal Granger, Jean François Lutz, Philippe Marion.

Membres distingués juniors

Joanna Wencel-Delord, Céline Pagis, Emilie Moulin, Danièle Laurencin, Giulia Mollica, Jonathan Potier, Lydia Sosa Vargas, Thomas Xavier Métro, Hugo Petitjean, Jean Lamerenx.

Prix des entités 2022

GFP/division Polymères et matériaux

Prix d'Honneur



• Jean-François Tassin

Ingénieur diplômé de l'ESPCI, Jean-François Tassin a obtenu en 1986 son doctorat (dir. Lucien Monnerie) sur l'analyse des processus de relaxation des chaînes dans les polymères en cours d'étirage. Après un postdoctorat chez IBM à Almaden (CA, E.-U.) sur l'adsorption de copolymères à blocs sur des surfaces, il revient à l'ESPCI et débute des recherches sur le comportement des chaînes lors du bi-étirage de films de PET, en collaboration avec Rhône-Poulenc. Nommé professeur à l'Université du Mans en octobre 1990, il y développe un nouvel axe autour de systèmes gélifiants ou épaississants (polymères associatifs, suspensions de sphères molles, hydrogels) puis de matériaux polymères formulés (élastomères thermoplastiques, mélanges de polymères, polymères chargés, systèmes conducteurs ioniques ou électroniques). La motivation principale de ses travaux tient dans la compréhension à l'échelle moléculaire des propriétés (notamment rhéologiques), ce qui l'amène à mettre en place des outils rhéo-optiques.

Après un mandat de directeur d'unité et de vice-président Recherche de l'Université du Mans (2004-2008), il partage son temps pendant un an entre Arkema à Serquigny et son laboratoire, lui permettant d'engager de nouveaux sujets et de prendre conscience de certains verrous industriels. Puis il occupe pendant sept ans (2010-2017) les fonctions de directeur adjoint scientifique à l'Institut de chimie du CNRS (INC) où il a en charge principalement les unités du champ des polymères et des matériaux inorganiques.

Jean-François Tassin a enseigné la physico-chimie et la phy-

sique des polymères à différents niveaux et dans plusieurs universités (Le Mans, ESPCI-Paris VI, Rouen, Bretagne Sud) ; il a contribué à la commission Enseignement du GFP, et organisé un stage de formation en physique des polymères en novembre 2003 suivi de l'édition d'un ouvrage collectif d'enseignement.

Dans ses fonctions à l'INC, il a cherché à souder davantage la communauté qui peinait à sortir son épingle du jeu à l'ANR, ce qui a conduit à l'organisation d'une action nationale de formation du CNRS en novembre 2014 et à la mise en place d'un comité d'évaluation scientifique spécifique à l'ANR.

Prix GFP/SCF



• Damien Montarnal

Damien Montarnal est un physico-chimiste des polymères. Lors de son doctorat sous la direction de François Tournilhac et Ludwik Leibler au Laboratoire Matière Molle et Chimie à l'ESPCI, il a contribué à initier le concept de matériaux « vitrimères » dans lequel des liaisons échangeables permettent de remettre en forme et recycler des polymères réticulés. Il a effectué ensuite deux séjours postdoctoraux à l'Université de Californie à Santa Barbara (équipes de Craig Hawker, Ed Kramer et Glenn Fredrickson) où il a travaillé sur le design et l'auto-assemblage de copolymères à blocs pour des applications en nanolithographie, puis au Laboratoire Ingénierie des Polymères (Lyon) avec Julien Bernard où il combinait chimie supramoléculaire, polymérisation radicale contrôlée et auto-assemblage pour organiser des diblocs supramoléculaires.

Il est recruté au CNRS en 2015 dans le Laboratoire Catalyse, Polymérisation, Procédés et Matériaux (CP2M) à l'Université de Lyon. Sa recherche se nourrit de collaborations avec de nombreux collègues de différents horizons et privilégie des thématiques d'ouverture. Il développe ainsi de nouvelles chimies dynamiques et des formulations afin d'apporter une meilleure compréhension rhéologique des vitrimères et d'étendre leurs domaines d'utilisation : réseaux « modèles » à base triazolium, latex et nanopapiers à base de vitrimères, mélanges structurés avec des thermoplastiques. Récemment, il s'intéresse également à l'utilisation de déchets (bateaux de plaisance en fin de vie) comme précurseurs de matériaux vitrimères.

Damien Montarnal a reçu la Médaille de bronze du CNRS en 2021.

Prix GFP/SFP



• Grégory Stoclet

Grégory Stoclet a obtenu son doctorat à l'Université de Lille en 2009 au Laboratoire de Structure et Propriétés de l'État Solide sous la codirection de Jean-Marc Lefebvre et Roland Séguéla. Son travail portait sur l'étude de la structuration à différents niveaux d'échelle en lien avec le comportement mécanique d'un polymère issu de ressources renouvelables : le polylactide. Après une année en tant qu'ATER à l'Université de Lille 1 Sciences et Technologies (2010) et un postdoctorat à l'Université Catholique de Louvain (2011) dans

le groupe de Jacques Devaux où il a travaillé sur l'élaboration et la caractérisation de nanocomposites à matrice polymère élaborés par extrusion assistée par injection d'eau, il a été recruté en octobre 2011 au sein de l'Unité Matériaux et Transformations (UMET) en tant que maître de conférences. Il enseigne au sein du département Matériaux de Polytech Lille et a obtenu son habilitation à diriger des recherches en 2022.

Ses travaux portent sur la caractérisation et la compréhension de la structuration induite par étirage des polymères amorphes et semi-cristallins. Il a notamment cherché à déterminer l'influence des conditions de sollicitation sur la nature de la phase induite sous étirage, dans le cas de polyesters initialement amorphes étirés à l'état caoutchoutique, en mettant en outre en évidence l'existence de relations entre la dynamique (macro)moléculaire et la nature de cette phase induite. Il s'est également intéressé à caractériser les structures mésomorphes pouvant être induites dans ces polymères et à essayer de comprendre leur rôle sur le comportement thermomécanique.

Ses travaux portent également sur l'étude de la plasticité des polymères, avec d'une part l'étude et la compréhension de l'influence de l'orientation macromoléculaire sur le comportement mécanique des polymères amorphes étirés à l'état vitreux, et d'autre part la caractérisation des mécanismes de plasticité mis en jeu lors de l'étirage à l'état caoutchoutique des polymères semi-cristallins à différents niveaux d'échelle.

Au travers de ses recherches, il a pu développer des compétences avancées en termes de caractérisation structurale multi-échelle par diffraction-diffusion des rayons X et réalisation d'essais *in situ*. Récemment, il a étendu ses travaux aux élastomères thermoplastiques et de manière plus générale aux copolymères à blocs, toujours dans le but de déterminer les relations entre structures et propriétés de ces matériaux.

Prix de thèse

Ce prix est décerné par la commission Enseignement du GFP (Groupe français d'études et d'applications des polymères).



• Djallal Ikkene

Djallal Ikkene a réalisé son doctorat intitulé «Glyco-nanostructures formulées via auto-assemblage induit par photo-polymérisation RAFT en dispersion aqueuse» au Laboratoire de Chimie Physique Macromoléculaire (LCPM)

de l'Université de Lorraine à Nancy. Menée sous la direction de Jean-Luc Six et de Khalid Ferji, cette thèse a été financée par le projet ANR JCJC « GlyNanEP » porté par Khalid Ferji.

L'objectif était de mieux comprendre et de débloquer les verrous scientifiques et techniques qui empêchent d'accéder facilement aux nano-objets de morphologie vésiculaire dans le cas particulier des dérivés amphiphiles de polysaccharides naturels (appelés glycopolymères). Ces vésicules polymères, plus robustes et plus stables que leurs homologues à base de phospholipides (liposomes), se révèlent très intéressantes pour une utilisation en nanomédecine, notamment comme vecteurs innovants de principes actifs. Pour ce faire, un procédé émergent appelé « auto-assemblage induit par la polymérisation (PISA) » a été adapté aux glycopolymères amphiphiles. Plus précisément, la croissance des chaînes polymères hydrophobes par polymérisation RAFT se fait en phase aqueuse à partir d'un dérivé polysaccharidique hydro-soluble. Le dextrane a été employé comme polysaccharide modèle pour prouver l'efficacité et la reproductibilité de cette technologie. Dès que les greffons atteignent une longueur critique, les glycopolymères amphiphiles alors produits s'auto-assemblent dans le milieu aqueux pour formuler des nano-objets de morphologie vésiculaire, sans recourir à l'utilisation de solvants organiques. La polymérisation RAFT a été réalisée sous irradiation lumineuse visible (source énergétique verte), à température ambiante, pour empêcher toute évolution probable des morphologies atteintes induite par la température.

Outre la morphologie vésiculaire recherchée, les travaux de cette thèse ont permis de mettre en évidence les transitions morphologiques qui ont lieu entre l'instant initial et la morphologie des nano-objets obtenus à conversion totale, et de révéler une nouvelle morphologie vésiculaire complexe inattendue composée d'une membrane polymère enfermant plusieurs cœurs hydrophiles. Le potentiel des vésicules obtenues pour la nanomédecine a été évalué en étudiant leur cytotoxicité, leur stabilité en milieu hypertonique et leur capacité à encapsuler des médicaments modèles.

Djallal Ikkene est postdoctorant depuis septembre dernier au Département de chimie de l'Université de Bâle (Suisse) où il travaille sous la direction de Cornelia G. Palivan sur l'auto-assemblage de copolymères amphiphiles dérivés de protéines.

31 janvier 2023

Sciences | Médias

Bibliothèque nationale de France, Paris

Scientifiques, journalistes, politiques : le bon, la brute et le truand ?

Ou comment interagir au service du bien commun...

Crise sanitaire, réchauffement climatique, crise de l'énergie... Rarement les scientifiques ont autant été sollicités par les politiques, rarement les politiques ont eu autant besoin des scientifiques, et rarement les journalistes – scientifiques en particulier – ont été autant exposés. Mais décider n'est pas le rôle des scientifiques, calculer pas celui des politiques, et perroqueter la parole des uns comme des autres pas celui des journalistes...

C'est pourquoi six sociétés savantes (SFDS, SMAI, SFP, SCF, SIF, SMF) se sont alliées à l'Association des journalistes scientifiques (AJSPI) et à la BNF pour proposer cette journée de colloques.

L'objectif ? Tenter de comprendre comment fonctionne ce ménage à trois parfois houleux, et apporter des pistes pour un meilleur dialogue.

• <http://sciencesetmedias.org>



Les mousses polymères poreuses : un avenir prometteur pour l'ingénierie chimique

Les mousses de polyuréthane, le grand oublié de l'industrie chimique

Les mousses de polyuréthane (PU) sont des matériaux poreux dont la structure solide, appelée matrice, est composée d'un polymère représentant seulement entre 3 et 10 % du volume de la mousse. Ces mousses sont principalement connues du grand public en tant que matériau isolant ou comme élément de filtration (aquarium, hotte aspirante...). Bien que leurs synthèses présentent des risques (toxicité des isocyanates), elles restent peu coûteuses, produites en forts tonnages, et sont facilement usinables. Elles sont également élastiques et résistantes. D'un point de vue de l'ingénierie chimique, elles disposent également de propriétés de transport intéressantes – surface spécifique élevée, faible perte de charge – et leur morphologie anisotrope permet d'intensifier les transferts de matière et de chaleur [1]. Malgré ces avantages, ces mousses ne sont pas exploitées comme garnissage de colonne ou support de catalyseur dans l'industrie chimique ; les mousses céramiques ou métalliques étant en effet généralement privilégiées [2]. Cette préférence se justifie par une meilleure stabilité chimique, une plus grande conductivité et stabilité thermique. Pourtant, les mousses PU présentent des propriétés de transport similaires et des propriétés mécaniques particulières qui leur confèrent un avantage non exploité jusqu'à présent : leur élasticité. C'est cette singularité qui est à la base de nos travaux.

Le réacteur à lit dynamique, c'est quoi au juste ?

Pour imaginer le fonctionnement du réacteur, il suffit de se référer à une situation simple de la vie courante : l'essorage d'une éponge. À l'image de l'action faite à la main, le laboratoire a développé un système original basé sur un vilebrequin actionné par un moteur électrique qui va comprimer/détendre deux mousses placées à l'intérieur d'une colonne [3]. Ces deux mousses servent de garnissage et sont disposées de sorte que lorsque la mousse du dessus est comprimée, celle située en dessous est détendue et *vice versa*. Ces cycles de compression/détente sont répétés avec une fréquence choisie par l'opérateur et imposée par la vitesse de rotation du moteur (figure 1). Le fait d'utiliser deux mousses en opposition est un choix stratégique car il permet de garder la hauteur totale (H) du garnissage constant au cours des cycles. Dans ces conditions, cette technologie peut être facilement comparée aux autres colonnes garnies (mousses rigides ou avec des particules) qui sont fréquemment utilisées dans l'industrie chimique ou pour le traitement de l'eau. De plus, cette configuration permet de travailler avec le même réacteur dans les deux modes : lit fixe (figure 1, position 1) ou lit dynamique.

Un outil novateur dans l'amélioration des transferts gaz-liquide

Pour les réacteurs avec garnissage et avec un écoulement à faible vitesse d'un mélange gaz/liquide, il est souvent observé que le gaz traverse le garnissage (mousses ou particules) de manière

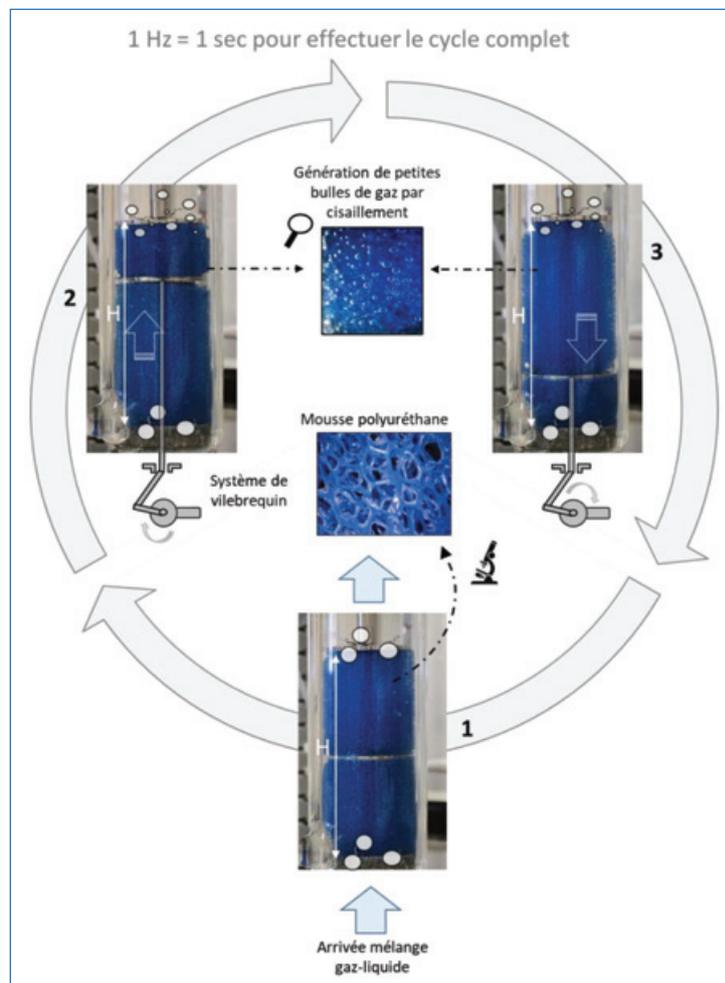
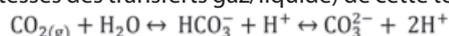


Figure 1 - Description d'un cycle complet de compression/détente des mousses, en partant de l'état initial 1 (mode lit fixe) jusqu'à revenir à cet état après compression et détente complète des deux mousses (mode lit dynamique).

hétérogène sous forme de grosses bulles via des chemins préférentiels. Dans ces conditions, le transfert du gaz au liquide est donc relativement faible. En mode lit dynamique, les cycles de compression/détente des mousses vont créer des forces de cisaillement générant alors de nombreuses bulles de petites tailles propices à un bon transfert du gaz à l'eau.

Pour démontrer l'efficacité de cette nouvelle technologie, une application en lien avec l'actualité environnementale a été choisie : le captage du dioxyde de carbone gazeux (CO₂). Lors de sa dissolution, le CO₂ va réagir avec l'eau en libérant des ions H₃O⁺ qui vont acidifier le milieu. Ce processus, très connu, est en partie responsable de l'acidification des océans. Cette réaction du gaz à l'eau va permettre à notre équipe de quantifier la quantité totale de CO₂ dissoute (par suivi de pH) et ainsi estimer les performances (vitesses des transferts gaz/liquide) de cette technologie :



Les résultats obtenus sont sans équivoque : avec le mode dynamique, il est possible de dissoudre une plus grande quantité de CO₂ ; et plus la fréquence des cycles est élevée, plus la quantité

transférée à l'eau est importante. Pour les mêmes conditions opératoires (débit d'entrée, température, même composition de l'eau initiale...), en mode lit fixe, la quantité totale dissoute est de l'ordre de 700 mg/L vs 1 500 mg/L en mode dynamique pour une fréquence de 1 Hz ou encore 1 900 mg/L avec 2 Hz. En effet, de plus petites tailles de bulles signifient une plus grande aire interfaciale gaz-liquide et donc une mise en contact plus efficace ; c'est pourquoi la quantité de CO₂ dissoute en solution augmente. Autre avantage, et pas des moindres : le système proposé ici fonctionne à l'aide d'un petit moteur électrique dont la consommation ne dépasse pas 50 watts. Ainsi le gain de performance apporté par ce réacteur dynamique n'est pas plus énergivore qu'une lampe de chevet.

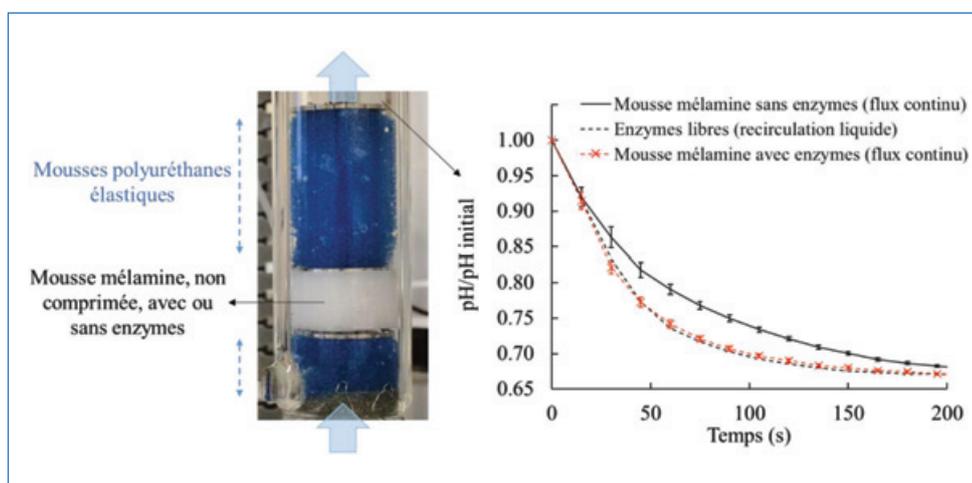


Figure 2 - Mousse enzymatique (blanche) insérée entre deux mousses élastiques dans le réacteur dynamique et variation du pH mesurée en sortie de réacteur (expérience avec ou sans enzymes, libres ou immobilisées en mode lit dynamique).

Vers des applications en catalyse enzymatique

En chimie, il est courant d'avoir recours à des catalyseurs pour accélérer une réaction. Les enzymes sont des catalyseurs biologiques très utilisés et parmi elles, l'anhydrase carbonique (AC) est certainement la plus performante que la nature a créée. En effet, son « turnover » est remarquable puisqu'elle est capable de transformer 10⁶ molécules de CO₂ dissoutes dans l'eau par seconde en ions hydrogencarbonates [4]. Cette enzyme est très coûteuse, fragile, et son utilisation en flux continu dans une colonne garnie est difficilement envisageable. L'immobilisation des enzymes est donc une étape cruciale pour la viabilité d'un procédé. Une équipe de recherche de l'Institut Charles Sadron a développé une technique d'immobilisation enzymatique universelle sur mousse via la formation d'un hydrogel [5]. Selon cette méthode, une mousse de mélatamine sert de support, et l'hydrogel (assemblage de peptides) va venir se fixer sur la mousse au cours de sa formation. Pendant ce processus, l'AC présente dans le milieu se retrouve ainsi emprisonnée dans l'hydrogel. Cette mousse catalytique a été testée avec la technologie de réacteur à lit dynamique. Les mousses enzymatiques développées étant encore trop fragiles pour subir des cycles de compression/détente, nous les avons donc placées au milieu des mousses élastiques (figure 2). Les résultats en flux continu sont prometteurs puisque la chute du pH est effectivement plus rapide avec les enzymes, mais surtout l'efficacité des enzymes immobilisées est la même que celle des enzymes libres [6].

Un changement de paradigme dans le domaine de l'ingénierie des réacteurs chimiques

Ces premiers résultats avec l'anhydrase carbonique sont particulièrement encourageants car ils ouvrent la voie à d'autres applications de réactions catalytiques gaz-liquide limitées par le transfert de matière. Nous étudions actuellement des réactions d'hydrogénation sélective catalysées par du palladium déposé directement sur les mousses élastiques. Pour accrocher les nanoparticules de palladium de manière robuste directement sur les mousses

élastiques, une méthode inspirée de la nature va nous être utile : le dépôt d'un film de « colle » de polydopamine (PDA). La PDA est un polymère bio-inspiré des protéines synthétisées par les moules marines pour se fixer sur différents supports. Dans cette nouvelle application, le défi est de garder le catalyseur actif sur les mousses PU du réacteur. Nous sommes relativement confiants dans les futurs résultats puisque nous avons déjà démontré au laboratoire le potentiel de la PDA sur les mousses PU dans un précédent brevet porté par le CNRS et l'UCBL [7]. Cependant, la température de 110 °C est la limite au-delà de laquelle les mousses de PU ne sont plus stables, ce qui ne permet pas leur utilisation pour des réactions fortement exothermiques. Finalement, l'originalité de cette technologie pourrait également se trouver dans sa capacité à résoudre un problème bien connu des industriels : le colmatage des garnissages, généralement rencontré avec des liquides chargés de particules. Telle une éponge que l'on nettoie sous un flux d'eau, il est probable que cette technologie de garnissage élastique soit une solution pour diminuer les effets du colmatage à long terme. Les axes de recherches à explorer avec cette nouvelle technologie de réacteur sont nombreux et plusieurs financements de thèse ont été obtenus au laboratoire. Enfin, il est à noter que des études sont en cours pour remplacer les isocyanates par des dicarbamates beaucoup moins toxiques lors de la synthèse des mousses. L'avenir de ces mousses poreuses semble donc assuré et il est certain qu'elles n'ont pas fini de nous surprendre dans le domaine de l'ingénierie chimique...

[1] M. Lacroix *et al.*, Pressure drop measurements and modeling on SIC foams, *Chem. Eng. Sci.*, **2007**, 62, p. 3259-67.

[2] J.T. Richardson *et al.*, Properties of ceramic foam catalyst supports: pressure drop, *Appl. Catal. Gen.*, **2000**, 204(1), p. 19-32.

[3] [https://fr.wikipedia.org/wiki/Vilebrequin_\(moteur\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Vilebrequin_(moteur))

[4] C. Greco *et al.*, Combining experimental and theoretical methods to learn about the reactivity of gas-processing metalloenzymes, *Energy Environ. Sci.*, **2014**, 7, p. 3543-73.

[5] J. Rodon Fores *et al.*, Protein-induced low molecular weight hydrogelator self-assembly through a self-sustaining process, *Chem. Sci.*, **2019**, 10, p. 4761-66.

[6] M. Michaud *et al.*, Unprecedented continuous elastic foam-bed reactor for CO₂ capture, *Chem. Eng. J.*, 12/08/2022, 138604, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.138604>

[7] D. Edouard *et al.*, Procédé de modification des propriétés de surface de mousses cellulaires élastomères, WO2016012689A2 (Google patents), **2012**.

Cette fiche a été préparée par **David EDOUARD***, maître de conférences, et **Maité MICHAUD**, postdoctorante, Université Claude Bernard Lyon 1, Laboratoire Catalyse Polymérisation, Procédés et Matériaux (CP2M), CNRS, CPE Lyon-UCBL (david.edouard@univ-lyon1.fr). Les fiches « Un point sur » sont coordonnées par Jean-Pierre FOULON (jpfoulon@wanadoo.fr). Elles sont regroupées et en téléchargement libre sur www.lactualitechimique.org.

Complétez votre collection

Les sommaires de tous les numéros peuvent être consultés sur notre site (www.lactualitechimique.org)

Tous les articles et numéros de plus de cinq ans sont téléchargeables gratuitement

Numéros spéciaux également disponibles en **version électronique** sur le site à un tarif préférentiel

Dernières parutions :

- De la vigne aux vins (décembre 2022) : 20 €
- La diffusion de neutrons (octobre 2022) : 20 €
- Le fer en catalyse : un élément d'avenir (mai-juin 2022) : 32 €
- Répondre aux menaces : explosifs, déminage et management de crises (avril 2022) : 20 €
- La chémobiologie explore le vivant (décembre 2021) : 20 €
- Hydrogène décarboné (octobre 2021) : 20 €
- De la chimie du solide aux batteries de demain (juillet-août 2021) : 20 €
- Substances naturelles et chimie durable (mai 2021) : 20 €
- Radiochimie et chimie sous rayonnement (mars-avril 2021) : 32 €
- Le jubilé du Groupe Français d'Études & d'Applications des Polymères (nov.-déc.-janv. 2020-2021) : 32 €
- Pigments et colorants (oct.-nov. 2019) : 32 €
- La montée en puissance de la RPE (sept. 2019) : 20 €
- Les applications actuelles de la calorimétrie (juin 2019) : 20 €
- Quelles réponses aux menaces chimiques, biologiques et radiobiologiques ? (mai 2019) : 20 €
- Les startups de la chimie (mars-avril 2019) : 32 €
- La chimie supramoléculaire (juin-juil.-août 2018) : 32 €
- Chimie et développement durable (mars-avril 2018) : 32 €
- Polymères de demain, boosters d'innovations (oct.-nov. 2017) : 32 €
- Chimie et miniaturisation (mai-juin 2017) : 32 €



Collection « Chimie et... », co-éditée et diffusée par EDP Sciences

Dernières parutions :

- Chimie et énergies nouvelles (mars 2022) : 25 €
- Chimie et lumière (janv. 2021) : 25 €
- Chimie et nouvelles thérapies (sept. 2020) : 25 €
- Chimie et Alexandrie dans l'Antiquité (janv. 2020) : 25 €
- Chimie, nanomatériaux, nanotechnologies (sept. 2019) : 25 €
- Chimie et biologie de synthèse - Les applications (janv. 2019) : 25 €
- Chimie, aéronautique et espace (sept. 2018) : 25 €
- La chimie et les sens (janv. 2018) : 25 €
- La chimie et les grandes villes (sept. 2017) : 25 €
- Chimie, dermo-cosmétique et beauté (janv. 2017) : 25 €
- Chimie et changement climatique (sept. 2016) : 25 €
- Chimie et expertise : santé et environnement (janv. 2016) : 25 €



À commander
chez votre libraire
ou directement sur
laboutique.edpsciences.fr



Bon de commande

Nom Prénom

Adresse (pour les particuliers, préciser l'adresse personnelle)

Code postal Ville Pays

Tél Courriel

Adresse IP (pour l'abonnement multiple).....

Montant total de la commande (frais de port inclus) :

Mode de règlement

- sur facturation (joindre obligatoirement le bon de commande)
- par chèque bancaire ou postal libellé à l'ordre de la SCF souhaite recevoir une facture acquittée
- par virement bancaire ou postal
France Société Générale Paris Seine Amont, 03081/00037265820/87 CCP Paris 30041 Compte 070786U020/90
Étranger IBAN FR7630003030810003726582087 Swift.Sogefrpp
- par carte bancaire (Visa, Eurocard Mastercard) Validité /
Cryptogramme visuel (les trois derniers chiffres du numéro imprimé au dos)

L'Actualité Chimique

SCF, Service Abonnement, 250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris - Tél. : 01 40 46 71 66/60.

abonnement@lactualitechimique.org - www.lactualitechimique.org



SEIRICH

Évaluer le risque chimique



“Mon outil pratique
et évolutif **pour**
prévenir les
risques chimiques
en entreprise”

Aïssata M.
Responsable HSE

Télécharger librement sur
www.seirich.fr

