



HAL
open science

Comprendre et prévenir le cycle photocatalytique responsable du goût de lumière dans les vins blancs et les Champagnes

Amaury Furet

► To cite this version:

Amaury Furet. Comprendre et prévenir le cycle photocatalytique responsable du goût de lumière dans les vins blancs et les Champagnes. Chimie organique. Université de Bordeaux, 2021. Français. ⟨NNT : 2021BORD0190⟩. ⟨tel-04162670⟩

HAL Id: tel-04162670

<https://theses.hal.science/tel-04162670v1>

Submitted on 16 Jul 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

THÈSE PRÉSENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE

**DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX**

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES
CHIMIE ORGANIQUE

Par Amaury FURET

**Comprendre et prévenir le cycle photocatalytique
responsable du goût de lumière dans les vins blancs et les
Champagnes**

Sous la direction du Dr. Dario BASSANI

Soutenue le 15 juillet 2021

Membres du jury :

M. DARRIET, Philippe	Professeur, Université de Bordeaux,	Président
M. ALLONAS, Xavier	Professeur, Université de Haute-Alsace,	Rapporteur
M. HOFFMANN, Norbert	Directeur de recherche, Université de Reims,	Rapporteur
Mme POIX, Svitlana	Ingénieure de Recherche, Bordeaux Sciences Agro,	Examinatrice
Mme LANGLERON, Emilie	R&D Innovations Manager, Martell Mumm Perrier-Jouët,	Examinatrice
M. BASSANI, Dario	Directeur de recherche, Université de Bordeaux,	Directeur de thèse
Mme ABSALON, Christelle	Ingénieure de recherche, Université de Bordeaux,	Invitée

Remerciements

Ces travaux de thèse sont l'aboutissement de plus de trois années de travail à l'Institut des Sciences Moléculaires (ISM) de l'Université de Bordeaux au sein de l'équipe Nanostructures Organiques (NEO). Je remercie l'ensemble des personnels de l'ISM avec qui j'ai pu être en contact et qui ont veillé au bon déroulement de cette thèse. Je remercie également l'Agence Nationale de la Recherche pour le financement de ce travail ainsi que Martell Mumm Perrier-Jouët pour sa grande implication dans ce projet de recherche.

Je souhaite remercier l'ensemble des membres du Jury qui ont accepté de prendre de leur temps pour évaluer ce travail. Tout d'abord, un grand merci au Pr. Xavier ALLONAS ainsi qu'au Dr. Norbert HOFFMANN qui ont été les rapporteurs de ce travail et qui ont examiné ce rapport en profondeur afin de me donner leurs conseils avisés. Je souhaite également remercier le Pr. Philippe DARRIET, président du Jury, pour son implication et ses précieux commentaires. Je remercie la Dr. Svitlana POIX, examinatrice, qui a également lu ce manuscrit en détail qui et m'a apporté son expertise. Je souhaite remercier Mme Emilie LANGLERON, examinatrice et R&D Innovations Manager chez Martell Mumm Perrier-Jouët, pour son accompagnement tout au long de ce projet et pour sa disponibilité. J'ai pu découvrir de nombreux aspects en rapport avec le monde du vin et du Champagne ! Enfin, je remercie Mme Christelle ABSALON, invitée et ingénieure de recherche au sein de l'équipe CESAMO de l'ISM, pour toute son aide et ses conseils sur le développement des méthodes analytiques et plus particulièrement sur l'utilisation de la SPME. Je la remercie pour sa disponibilité lorsque j'avais souvent besoin de son aide.

Je remercie tout particulièrement le Dr. Dario BASSANI, mon directeur de thèse à qui je souhaite adresser tout ma gratitude. Tout d'abord, merci de m'avoir permis de travailler sur ce beau projet de recherche qui possèdera, je l'espère, de nombreuses applications dans le futur. Merci pour ta disponibilité tout au long de ces trois années et demi de travail ainsi que pour tes conseils qui ont toujours permis d'orienter ce travail de recherche dans le bon sens. Merci au Dr. James FINDLAY qui a synthétisé toutes les résines présentées dans ce rapport et qui a beaucoup apporté à ce projet. C'était un réel plaisir de travailler avec toi. Je tiens également à remercier Solène GRADELET de Martell Mumm Perrier-Jouët pour son aide

concernant les irradiations et les analyses sensorielles sur les échantillons de Champagne authentiques.

Je souhaite également remercier l'ensemble des permanents de l'équipe NEO pour le très bon cadre de travail qu'ils m'ont offert. Merci à Damien, Pascale, Clotilde et Guillaume pour toute leur aide au laboratoire et pour leur bonne humeur quotidienne. Une pensée particulière pour Jean-Marc et pour ces nombreuses séances de natation passées ensemble, toujours très agréables. Merci également à tous les doctorants, post-doctorants et stagiaires que j'ai pu côtoyer durant ces trois années et qui ont contribué à les rendre si agréables : Alex, Avijit, Axel, Baptiste, Borja, Julien, Laura, Marine, Maxime, Morgan, Nicolas, Quentin et tant d'autres...

Ces remerciements ne sauraient être complets sans évoquer l'ensemble des amitiés que j'ai pu nouer au cours de ma vie et qui m'ont apporté tant de bonheur, merci à vous tous. Le soutien des membres de ma famille a également toujours été indispensable et je souhaite les remercier pour cela. Merci d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir accompagné durant toutes ces années. Enfin, ces huit dernières années n'auraient pas été les mêmes sans la présence, le soutien et l'amour d'Elise, merci pour tout.

Table des matières

Introduction générale	1
Chapitre 1 : Etude bibliographique.....	3
1.1 Présentation générale sur le Champagne	4
1.2 Le goût de lumière, un défaut organoleptique reconnu	6
1.2.1 Le goût de lumière dans l'industrie de la bière.....	6
1.2.2 Le goût de lumière dans l'industrie laitière et les corps gras.....	11
1.3 Le goût de lumière dans l'industrie du vin et du Champagne	17
1.3.1 Définition et caractéristiques.....	17
1.3.2 Paramètres pouvant favoriser l'apparition du goût de lumière dans les vins et les Champagnes	20
1.3.2.1 La longueur d'onde de la source lumineuse.....	21
1.3.2.2 La riboflavine	21
1.3.2.3 Les acides aminés	24
1.3.2.4 Les glucides et les sulfites	25
1.3.2.5 Les fongicides et pesticides	26
1.3.2.6 Les esters d'acide gras	27
1.3.3 Etat de l'art sur la compréhension du mécanisme de formation du goût de lumière dans les vins et les Champagnes.....	27
1.4 La photochimie de la riboflavine	33
1.4.1 Rappels théoriques de photochimie	33
1.4.1.1 Absorption de la lumière par des molécules organiques	33
1.4.1.2 Les états excités et leurs transitions électroniques.....	33
1.4.1.3 Processus de désactivation des molécules.....	35
1.4.1.4 Les transferts d'énergie et les transferts d'électron.....	37
1.4.2 La photoréactivité de la riboflavine	41
1.5 Les moyens de protection des vins et des Champagnes	47
1.5.1 Les contraintes industrielles et la sensibilisation du consommateur.....	47
1.5.2 Les moyens de protection physiques	48
1.5.3 Diminution de la sensibilité des vins	51
1.6 Conclusions du chapitre 1 et objectifs de la thèse.....	52
Chapitre 2 : Etudes mécanistiques de la formation du goût de lumière.....	55
2.1 Introduction.....	56

2.2	Mesures de rendements quantiques et systèmes d'irradiation	57
2.2.1	Systèmes d'irradiation.....	57
2.2.2	Principe de l'actinométrie	58
2.2.3	Utilisation d'un actinomètre physique.....	61
2.2.4	Calcul des rendements quantiques	62
2.3	Développement de la méthode analytique.....	64
2.3.1	Optimisation de la méthode analytique avec une GC-PFPD et présentation de la SPME.....	64
2.3.2	Injection directe de solutions modèles	65
2.3.3	Extraction des espèces soufrées volatiles avec des solvants organiques	66
2.3.4	Développement de la méthode SPME-GC-PFPD	68
2.3.4.1	Choix de la fibre et optimisation des conditions d'extraction par SPME.....	68
2.3.4.2	Choix de l'étalon interne pour l'étalonnage du MeSH, du DMDS et du DMTS.....	69
2.4	Préparation des solutions modèles, conditions expérimentales et courbes d'étalonnage des composés soufrés volatils	71
2.4.1	Préparation des solutions modèles et conditions expérimentales	71
2.4.2	Courbes d'étalonnage des composés soufrés volatils analysés par SPME-GC-PFPD	72
2.5	Formation photochimique des espèces soufrées volatiles.....	75
2.5.1	Effet de l'oxygène sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles.....	75
2.5.2	Influence du pH sur les rendements quantiques de DMDS et DMTS.....	77
2.5.3	Variation de la concentration en méthionine dans des solutions modèles irradiées	78
2.6	Mesures de rendements quantiques avec des analogues de la méthionine	83
2.6.1	Introduction	83
2.6.2	Synthèse du MBA	84
2.6.3	Irradiations en présence de méthionine, MBA et MP.....	84
2.7	Proposition d'un mécanisme alternatif de formation des espèces soufrées volatiles	86
2.7.1	Présentation du mécanisme.....	86
2.7.2	Détection de la glycine par GC-MS.....	93
2.7.3	Etude de l'encombrement stérique sur le mécanisme de formation des espèces soufrées volatiles.....	94
2.7.3.1	Synthèse de l'isopropionine	96
2.7.3.2	Courbe d'étalonnage du 2-propanethiol	97
2.7.3.3	Irradiation de solutions modèles contenant l'isopropionine	98
2.7.3.4	Irradiation de solutions modèles contenant l'isopropionine et la méthionine	99
2.8	Conclusion du chapitre 2	103

Chapitre 3	: Etudes photochimiques sur des matrices complexes	105
3.1	Introduction	106
3.2	Influence de la longueur d'onde d'irradiation sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles	107
3.3	Influence de l'oxygène sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles	108
3.3.1	Introduction	108
3.3.2	Suivi cinétique de formation des espèces soufrées volatiles en absence totale d'oxygène et à l'abri de la lumière	109
3.3.3	Suivi cinétique de formation des espèces soufrées volatiles en conditions aérobie et anaérobie	112
3.4	Influence de l'ajout de sulfites et de sucres sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles	114
3.4.1	Introduction	114
3.4.2	Impact de la concentration en sulfites sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles en présence de sucres	117
3.4.3	Impact de la concentration en sucres sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles en présence de sulfites.....	120
3.4.4	Influence du pH de la solution sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles en présence de sulfites.....	122
3.5	Etude de la transformation de la riboflavine en absence d'oxygène	124
3.5.1	Introduction	124
3.5.2	Irradiation d'une solution contenant la riboflavine jusqu'à obtenir une absorbance minimale	124
3.5.3	Irradiation d'une solution contenant la riboflavine jusqu'à obtenir une absorbance initiale divisée par deux.....	126
3.6	Conclusion du chapitre 3	128
Chapitre 4	: Protection des vins blancs et des Champagnes	129
4.1	Introduction	130
4.2	Adsorption de méthionine avec une résine à base de porphyrines	131
4.2.1	Présentation et applications des matériaux organiques poreux.....	131
4.2.2	Complexation de la méthionine avec des porphyrines en milieu aqueux	134
4.3	Synthèse des méso-porphyrines cuivrées	141
4.3.1	Synthèse des méso-porphyrines cuivrées 1a et 2a de type A ₂ B ₂	141
4.3.1.1	Synthèse des aldéhydes 5a et 5b	144
4.3.1.2	Synthèse des N-tosylimines 8a et 8b	145
4.3.1.3	Synthèse du 5-phényldipyrrométhane 6	146
4.3.1.4	Synthèse des méso-porphyrines 7a et 7b de type A ₂ B ₂	146

4.3.1.5	Synthèse des méso-porphyrines hydrosolubles 9a et 9b	147
4.3.1.6	Méallation des porphyrines 9a et 9b afin d'obtenir les composés 1a et 1b	149
4.3.2	Synthèse des <i>méso</i> -porphyrines cuivrées 2a et 2b avec quatre substituants anioniques	150
4.3.2.1	Synthèse de la méso-tétrakis(4-sulfophényle) porphyrine cuivrée 2a	150
4.3.2.2	Synthèse de la méso-tétrakis(3-sulfonatophényle) porphyrine cuivrée 2b	150
4.4	Suivi de complexation de la méthionine par spectroscopie RMN ¹H	152
4.5	Suivi de complexation de la méthionine par spectroscopie UV-Visible	157
4.6	Complexation de la tétraphénylporphyrine cuivrée avec des molécules soufrées dans le chloroforme deutéré	159
4.7	Synthèse de résines à base de porphyrines et complexation de la méthionine (travaux effectués par le Dr. James Findlay)	161
4.7.1	Synthèse des résines	161
4.7.2	Etude de complexation de la méthionine par RMN ¹ H avec les résines synthétisées	165
4.8	Conclusion du chapitre 4	167
Chapitre 5 : Vers l'utilisation de solutions authentiques		169
5.1	Introduction	170
5.2	Courbes d'étalonnage des espèces soufrées volatiles dans des solutions authentiques de Champagne	171
5.3	Analyse des espèces soufrées volatiles formées dans des échantillons de Champagne irradiés et analyse sensorielle	174
5.4	Irradiations avec un Suntest Q-1000 et analyses de Champagne frais et aéré	178
5.5	Protection de solutions authentiques de Champagne avec une résine fonctionnelle ...	183
5.6	Conclusions et perspectives	187
Conclusion générale et perspectives		189
Références		193
Abréviations		205
Partie expérimentale		207

Introduction générale

Les vins et les Champagnes sont des produits consommés dans le monde entier et une attention particulière est accordée à leur qualité. Cependant, de nombreux défauts peuvent apparaître, de leur élaboration jusqu'à leur stockage. La déviation aromatique la plus connue du grand public est le goût de bouchon qui se manifeste lors de l'ouverture de la bouteille. Un autre défaut qui est tout aussi délétère pour les vins et les Champagnes peut se développer suite à l'exposition du produit à la lumière : le « goût de lumière ». Cette altération organoleptique entraîne la formation de goûts rappelant le chou cuit ou d'odeurs de laine mouillée. Bien que le mécanisme de formation soit différent, ce défaut est également présent dans l'industrie brassicole et l'industrie des produits laitiers. Le phénomène a été largement étudié dans ces industries et des méthodes de protection physiques et chimiques performantes existent. Dans l'industrie viticole, seule l'utilisation de contenants permettant de protéger le produit de la lumière a démontré son efficacité. C'est pourquoi la plupart des bouteilles de vin sont conditionnées dans du verre opaque. Cependant, le consommateur aime voir le produit qu'il achète et la commercialisation de vins conditionnés en bouteille blanche peut être souhaitable.

Le goût de lumière est formé suite à la réaction de photooxydation des acides aminés soufrés naturellement présents dans les vins par un photosensibilisateur : la riboflavine. Cette molécule est plus connue sous le nom de vitamine B2 et elle est essentielle au bon fonctionnement du corps humain. Les humains ne peuvent pas la synthétiser et se la procurent par l'alimentation. Lorsque la riboflavine absorbe la lumière, un état excité singulet est formé. Cet état est majoritairement transformé en un état triplet par un croisement inter-système et il peut oxyder les acides aminés soufrés par transfert d'électron. Ces acides aminés peuvent ensuite se dégrader en produits soufrés volatiles tels que le méthane-thiol, le diméthyl-disulfure et le diméthyl-trisulfure. Ces espèces soufrées ont des seuils de perception très bas et des concentrations de l'ordre du micromolaire entraînent la formation d'un goût de lumière. De plus, le vin peut développer ce défaut très rapidement. En effet, l'exposition d'une flûte de Champagne à la lumière du soleil d'été pendant 15 min peut suffire pour former le goût de lumière.

Le premier chapitre est une étude bibliographique sur le goût de lumière dans les industries brassicoles, laitières et viticoles. Les études antérieures permettant de comprendre le mécanisme de formation du goût de lumière ainsi que les paramètres pouvant influencer son apparition sont présentés. La photochimie de la riboflavine et plus particulièrement la réactivité de l'état triplet sont également décrites. De plus, les méthodes de protection physiques et chimiques existantes seront également détaillées.

Le deuxième chapitre est consacré à l'étude mécanistique de la formation du goût de lumière dans des solutions modèles de vin. Les espèces intermédiaires formées sont détaillées et un mécanisme de formation des espèces soufrées volatiles est proposé. Le développement d'une méthode analytique SPME-GC-PFPD ainsi que les systèmes d'irradiation utilisés lors de ces études sont également présentés.

Le troisième chapitre a pour but d'étudier les paramètres pouvant influencer la formation du goût de lumière dans des solutions modèles plus complexes. En effet, la teneur en oxygène dissous, la longueur d'onde d'irradiation, l'ajout de sulfites et l'ajout de sucres peuvent avoir une influence sur les concentrations des espèces soufrées volatiles formées. L'étude de la transformation de la riboflavine en absence d'oxygène est également présentée.

Le quatrième chapitre porte sur l'amélioration de la stabilité du vin afin de minimiser l'apparition du goût de lumière. La synthèse de porphyrines hydrosolubles ainsi que leur capacité à complexer la méthionine sont présentées. La synthèse d'une résine poreuse insoluble dans les solutions hydro-alcooliques constituée de motifs porphyrines et permettant de complexer sélectivement la méthionine est également détaillée.

Enfin, le dernier chapitre est consacré à l'étude de la formation du goût de lumière dans des solutions authentiques de Champagne. Des irradiations d'échantillons authentiques de Champagne avec un simulateur solaire sont présentées. Une analyse sensorielle effectuée par un panel d'experts permet de montrer la corrélation entre les analyses chimiques et les tests olfactifs. De plus, des résultats de complexation de la méthionine avec une résine à base de porphyrines dans des solutions authentiques de Champagne sont présentés dans ce rapport.

Chapitre 1 : Etude bibliographique

1.1 Présentation générale sur le Champagne

Le Champagne est un vin principalement consommé lors de moments festifs ou pour des célébrations. Il est mondialement connu et est considéré comme un produit raffiné et élégant. Afin d'obtenir une bouteille de Champagne, il est nécessaire d'utiliser en moyenne 1,150 kg de raisins et le produit fini contient un degré d'alcool compris entre 12 et 13%, 1 à plus de 50 g/L de sucres, 4 à 6 g/L d'acide tartrique, 5 à 8 litres de gaz carbonique dissous pour atteindre une pression comprise entre 6 et 8 bars à 20°C, ainsi que plusieurs centaines d'autres composés.¹ Le Champagne est donc un produit riche en composés du fait de son processus d'élaboration qui est long et complexe. Afin d'obtenir l'appellation de vin de Champagne, il est essentiel que les vignes se situent dans la région Champagne et que l'élaboration du produit suive la « méthode champenoise ». Elle repose sur trois étapes incontournables : l'élaboration de vins tranquilles, l'assemblage de ces vins clairs et la deuxième fermentation alcoolique.² Lors de l'élaboration des vins tranquilles, les vignes sont vendangées à la main afin de choisir les grappes de raisin qui sont considérées comme arrivées à maturité. Ces dernières sont ensuite pressurées pour obtenir le jus de raisin, appelé moût, qui deviendra du vin clair après une fermentation alcoolique et éventuellement une fermentation malolactique. La deuxième étape est l'assemblage : la maison productrice du Champagne choisit différents crus champenois et les assemble. Lors de l'élaboration d'un vin millésime, seuls les vins issus d'une récolte de la même année peuvent être utilisés. Cette étape est très importante car elle permet de donner le caractère souhaité au Champagne et de se démarquer des autres produits. Le vin obtenu est ensuite filtré, clarifié et tiré en bouteille pour subir une deuxième fermentation qui est aussi appelée prise de mousse. Celle-ci dure trois mois et l'élevage sur lies dure 12 mois. Les lies sont les résidus de levures mortes qui sédimentent au fond de la cuve ou de la bouteille à l'issue de la fermentation. Elles sont riches en composés aromatiques, en acides aminés, ainsi qu'en mannoprotéines qui permettent d'améliorer la sensation en bouche. A l'issue de cette seconde fermentation, le contenu est mélangé par un remuage et un dégorgement permet d'éliminer les levures mortes résiduelles. Enfin, le vin subit un dosage avec une liqueur d'expédition qui permet de définir le type de Champagne voulu (doux, sec, demi-sec ou encore brut).

Historiquement, les romains ont amené la vigne en Champagne dès l'Antiquité et cette région était considérée comme une région de vin rouge jusqu'au XVI^{ème} siècle. Ce n'est qu'au XVIII^{ème} siècle, lorsque la fabrication de vins effervescents a pu être maîtrisée, que cette région se tourne vers le vin blanc. Au XVIII^{ème} siècle, le Champagne commence à être stocké dans des bouteilles à teintes claires.³ Déjà à cette époque, il est observé que le jour est délétère pour le Champagne et le vin en général. Ainsi, en décrivant la cave idéale, A.B de Périgord déclare en 1825 : « Le jour doit en être sévèrement banni ; le soleil est mortel pour la cave ».⁴ C'est pourquoi dès la fin du XIV^{ème} siècle, du manganèse a été incorporé dans la composition du verre afin de protéger le contenu des rayons lumineux.¹ Le manganèse induit une couleur foncée au verre qui peut maintenant bloquer jusqu'à 95% des rayons ultraviolets.¹ Les propriétés organoleptiques du Champagne sont nombreuses et peuvent varier en fonction du type de Champagne que l'on étudie. Elles peuvent néanmoins être regroupées dans plusieurs catégories communes. Tout d'abord, il y a les caractéristiques visuelles. On s'intéresse alors à la limpidité, la couleur ou encore la tenue de mousse du produit. Il est communément admis qu'un Champagne qui a été parfaitement fabriqué doit avoir une limpidité cristalline. La couleur se situe dans la gamme des jaunes mais l'apparition de certaines nuances rosées ou jaunes verdâtres peuvent être observées en fonction du cépage utilisé pour l'élaboration du Champagne.¹ La tenue de mousse, quant à elle, doit être généreuse et être composée de bulles très fines.

Ensuite, il y a les caractéristiques odorantes. Cette catégorie décrit les arômes, le bouquet ou la fraîcheur d'odorat. Ces caractéristiques varient en fonction de l'assemblage et du vieillissement. Ainsi, la fraîcheur d'odorat d'un Champagne diminue avec son âge du fait de l'oxydation des composés volatiles et de la diminution du taux de gaz carbonique. Enfin, il y a les caractéristiques sapides qui concernent le goût du Champagne. En fonction de l'assemblage des cuvées, il existe des variations sur le fruité, le corps ou encore la finesse du produit final.¹ En dépit des soins apportés lors de la fabrication, de nombreux défauts peuvent se développer dans un Champagne. On parle alors de déviations aromatiques. La plus connue est le « goût de bouchon », qui apparaît généralement dans les vins fermés avec un bouchon en liège. Il est décrit comme donnant des odeurs de moisissure, de champignon, ou de terre humide au produit. L'espèce responsable du goût de bouchon est le 2,4,6-trichloroanisole et

cette molécule est formée suite à l'action de micro-organismes sur des composés chlorés phénoliques.⁵ Ce défaut ne peut pas être éliminé mais il devient de plus en plus rare grâce aux progrès techniques qui ont été faits sur la fabrication et le traitement des bouchons en liège.⁶ Un défaut moins connu du grand public est le « goût de lumière ». Cette altération organoleptique est liée aux conditions de conservation du Champagne, de son élaboration jusqu'à sa vente. Sa formation est due à l'action de lumière contenant des longueurs d'onde d'émission correspondant à l'ultraviolet et au bleu (entre 300 et 500 nm). L'exposition du produit à la lumière entraîne alors la formation de produits soufrés volatiles fortement malodorants.⁷ Ainsi, un vin touché par le goût de lumière développe des odeurs désagréables de chou cuit et de laine mouillée. Dans certaines conditions, l'exposition d'une flûte de Champagne pendant une quinzaine de minutes au soleil peut être suffisante pour qu'un goût de lumière se développe.

1.2 Le goût de lumière, un défaut organoleptique reconnu

Le goût de lumière est décrit comme une altération des propriétés organoleptiques d'un produit suite à son exposition à la lumière. La protection des produits alimentaires face au goût de lumière constitue un véritable enjeu industriel dans de nombreux domaines tels que la filière brassicole, les produits laitiers, les huiles alimentaires ou encore les vins et les Champagnes. Le mécanisme de formation du goût de lumière ainsi que les molécules responsables de son développement ne sont pas les mêmes pour chaque domaine. De plus, le processus est bien mieux connu et maîtrisé dans l'industrie de la bière et des produits laitiers que dans celle du vin. Cette partie présente les mécanismes de formation du goût de lumière ainsi que les moyens de prévention existant dans l'industrie brassicole et l'industrie des produits laitiers.

1.2.1 Le goût de lumière dans l'industrie de la bière

Le goût de lumière peut apparaître dans la bière et on s'y réfère sous les termes de « light struck flavor » ou « skunky odor ». Il est décrit comme une odeur soufrée très désagréable rappelant celle des jets de putois. C'est en 1875 que la présence du goût de

lumière dans la bière est évoquée pour la première fois par C. Lintner.⁸ Cependant, ce n'est qu'en 1961 que la molécule à l'origine de ce défaut a été mise en évidence et qu'un premier mécanisme de formation a été proposé.⁹ Il s'agit du 3-méthyl-2-butène-1-thiol, aussi appelé MBT (Schéma 1.2), et ce composé a également été identifié dans le vin.¹⁰ Cette molécule a un seuil de perception extrêmement bas ce qui signifie que tout goût de lumière qui se forme dans la bière sera très facilement détectable par le consommateur. Le seuil de détection varie selon les individus et le type de bière mais la valeur se situe autour de 4 ng/L.¹¹ Un premier mécanisme a été proposé par Kuroiwa & al. en 1963 mais celui-ci a été révisé par la suite.¹²

Les composés à l'origine de la formation du goût de lumière dans la bière sont les humulones qui sont des molécules naturellement présentes dans le houblon et qui participent à l'amertume de la bière. Le moût contenant des humulones est chauffé lors de l'élaboration de la bière ce qui a pour effet de transformer les humulones en un mélange de *cis*-isohumulones et *trans*-isohumulones (Schéma 1.1).¹³ Ces isohumulones sont sensibles à la lumière et deux mécanismes ont été proposés pour expliquer leur dégradation. Il été montré que les composés *trans* sont moins stables que les composés *cis* vis-à-vis de la lumière.¹⁴

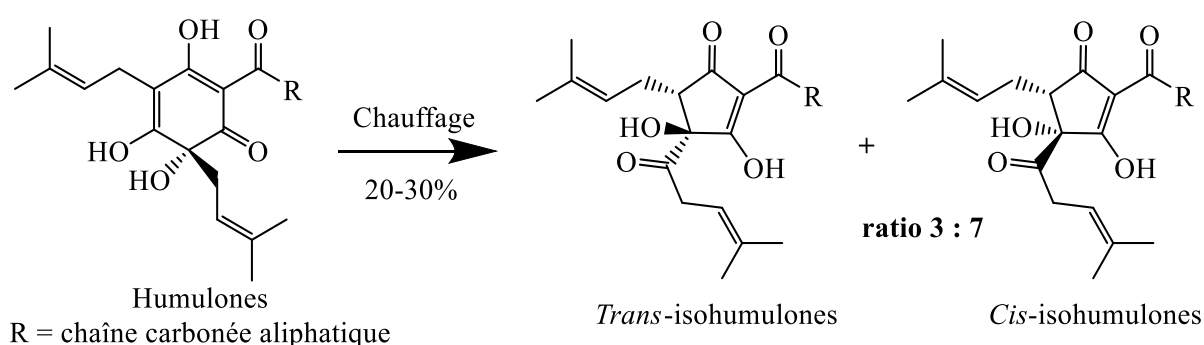


Schéma 1.1 : Isomérisation des humulones après chauffage du moût de la bière.

Le premier mécanisme de dégradation des isohumulones menant à la formation de MBT est appelé mécanisme d'irradiation directe car il ne fait pas intervenir de photosensibilisateur supplémentaire. Ainsi, une molécule d'isohumulone absorbe la lumière et est excitée vers un état singulet qui est transformé en un état excité triplet par un croisement inter-système. Ensuite, un transfert d'énergie intramoléculaire de l'état triplet du tri-carbonyle énolesé au motif acyloïne s'opère. Cette étape est discutable car ce transfert d'énergie n'est pas favorisé pour des raisons de mésomérie. Un clivage de Norrish de type I

du motif acyloïne a ensuite lieu, ce qui mène à une décarbonylation du radical carbonyle et à la formation des radicaux **1** et **2**. Enfin, le radical **2** forme le MBT en présence d'une source de soufre telle que la cystéine (Schéma 1.2).¹⁴

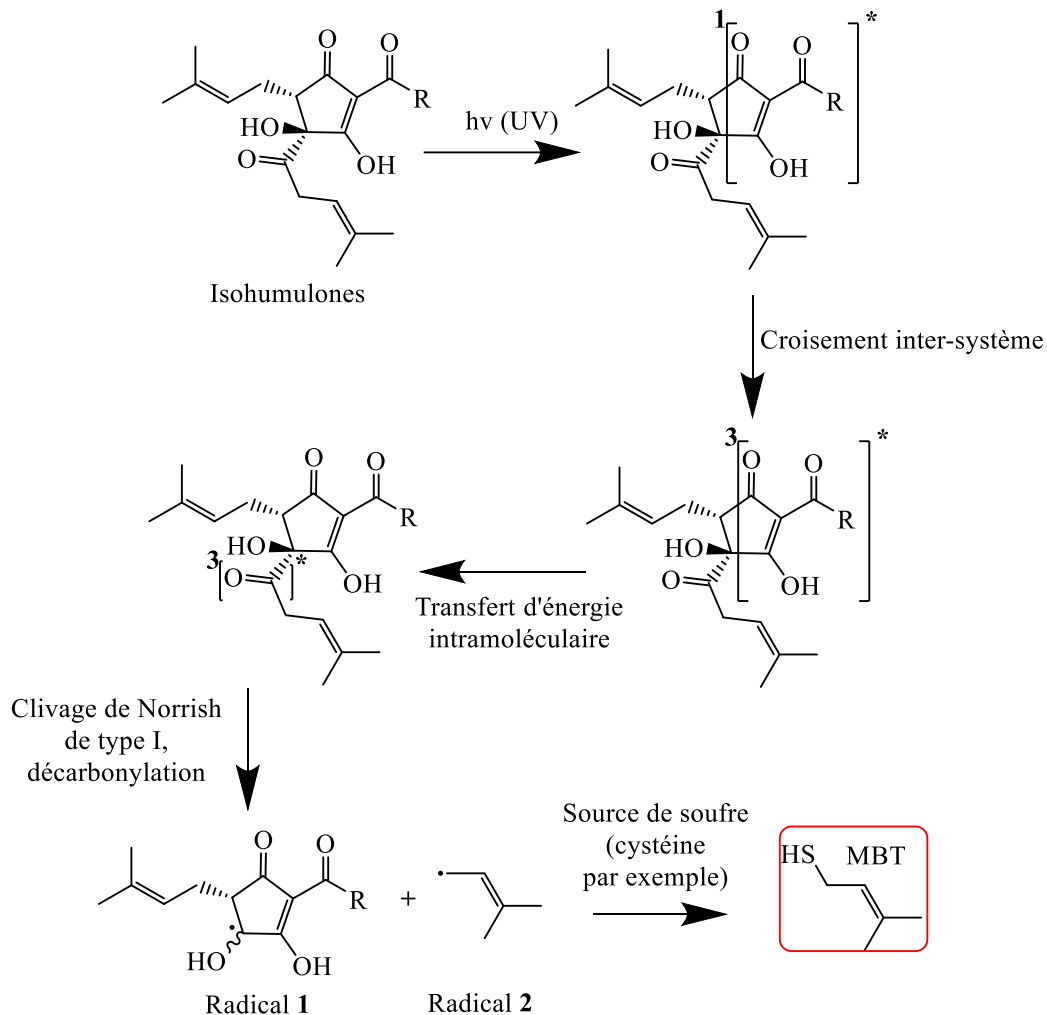


Schéma 1.2 : Mécanisme de formation du MBT par irradiation directe à partir d'isohumulones en présence d'une source de soufre.

Le deuxième mécanisme de dégradation des isohumulones menant à la formation de MBT fait cette fois intervenir un photosensibilisateur naturellement présent dans la bière : la riboflavine (aussi appelée vitamine B2). Dans ce mécanisme, la riboflavine absorbe la lumière pour former un état excité singulet. Cet état est transformé en un état excité triplet par un croisement inter-système et oxyde l'isohumulone par transfert d'électron. Après abstraction d'hydrogène inter- ou intramoléculaire, le radical **1** est formé. Cette étape peut être discutée car l'abstraction d'hydrogène n'est pas favorisée. En effet, le radical **1** est moins stable que

celui de la structure précédente. Le clivage en position alpha puis la décarbonylation mène ensuite à la formation du radical **2**. Dans ce mécanisme, la source de soufre est la cystéine. Le triplet de la riboflavine oxyde la cystéine par transfert d'électron pour former le radical sulfhydryle **3**. Après recombinaison radicalaire entre **2** et **3**, le MBT est obtenu (Schéma 1.3).¹⁴

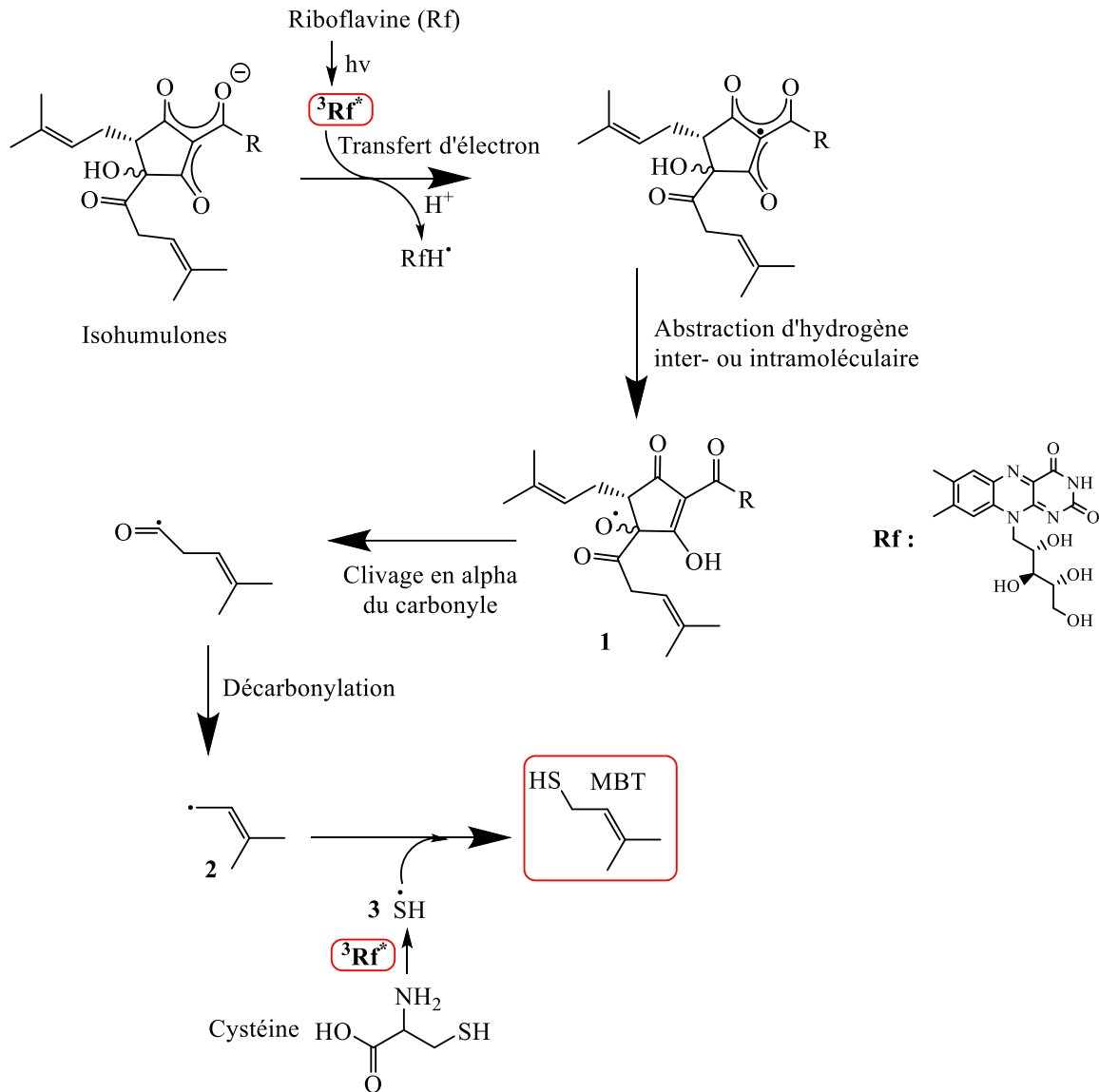


Schéma 1.3 : Mécanisme de formation du MBT à partir d'isohumulones par irradiation sensibilisée avec la riboflavine.

Il suffit que quelques millimoles d'isohumulones réagissent pour détecter un goût de lumière et il est donc nécessaire de protéger la bière de la lumière.¹⁵ Afin de minimiser l'apparition de ce défaut dans la bière, les industriels peuvent utiliser deux types de protection : la protection physique ou l'amélioration de la stabilité du produit.

La protection physique consiste à utiliser les bouteilles en verre les plus opaques possibles. C'est pourquoi les bouteilles commercialisées sont majoritairement de couleur verte ou brune. Comme l'indique la Figure 1.1, la transmission de la lumière dépend de la couleur du verre utilisée.

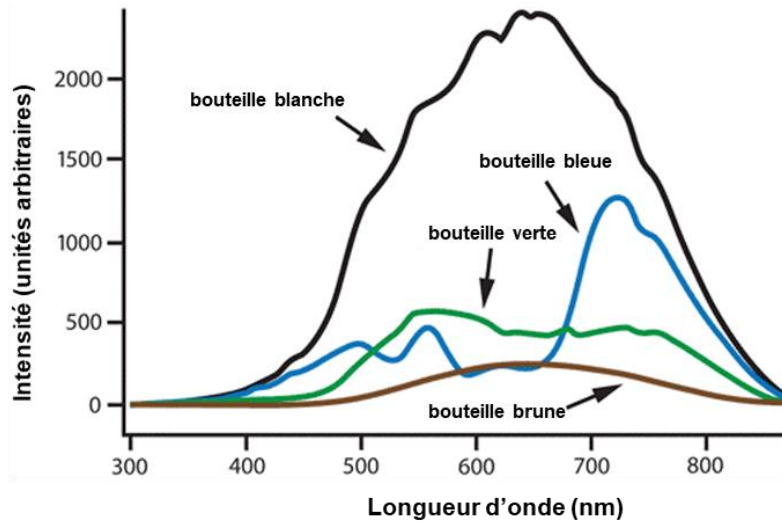


Figure 1.1 : Transmission de la lumière par différents types de verre en fonction de la longueur d'onde.¹⁶
Reproduit avec permission.

Les bouteilles brunes offrent la meilleure protection car elles filtrent jusqu'à 98% des rayons lumineux dans la région UV-Visible. Certains industriels choisissent également d'utiliser des récipients en aluminium pour protéger leurs bières. Ce packaging est très efficace pour contrer l'apparition du goût de lumière.¹⁷ Cependant, le récipient en aluminium souffre d'une mauvaise image car il est associé à des bières de basse qualité mais ce type de contenant tend à être de plus en plus utilisé.

Certains fabricants préfèrent utiliser des méthodes chimiques pour éviter que le goût de lumière ne se développe dans la bière. En effet, les consommateurs aiment voir le produit qu'ils dégustent et les bouteilles opaques le masquent. Ainsi, depuis 1974, un procédé peut être utilisé pour extraire les humulones du houblon et les transformer en isohumulones en amont du brassage.¹⁸ Il est aujourd'hui utilisé pour de nombreuses bières produites dans le monde. Cette méthode permet d'extraire les humulones présentes dans la bière et de les chauffer afin de les transformer en isohumulones. Il est alors possible de doser les isohumulones afin de donner l'amertume souhaitée à la bière, ce qui est très intéressant pour

les fabricants. Ensuite, ces isohumulones sensibles à la lumière peuvent être transformées en molécules moins sensibles à la lumière tout en gardant des propriétés organoleptiques similaires. Dans ce procédé, les isohumulones sont réduites en dihydroisohumulones qui possèdent le même degré d'amertume mais qui sont plus stables photochimiquement. Néanmoins, une étude de Huavere & al. suggère que les dihydroisohumulones peuvent également être sensibles à la lumière.¹⁵ En effet, les auteurs ont mis en évidence la formation possible de MBT à partir de ces molécules et ont proposé un mécanisme de formation du MBT incluant une photooxydation par la riboflavine à l'état triplet.

1.2.2 Le goût de lumière dans l'industrie laitière et les corps gras

Le goût de lumière peut également se développer dans les produits laitiers tels que le lait, le beurre ou le fromage et ce phénomène est connu depuis le début du XX^{ème} siècle. Il a été largement étudié et est décrit comme donnant un goût de maïs, d'herbe coupée aigre ou encore de chou cuit terreux aux produits laitiers.¹⁹ Le principal composé à l'origine de la formation du goût de lumière dans les produits laitiers est la riboflavine. C'est en 1879 que le chimiste Blyth met pour la première fois en évidence la présence d'un composé fluorescent jaune dans le lait.²⁰ Ce composé est ensuite caractérisé et nommé en tant que riboflavine dans les années 1930. Dans le lait, la concentration en riboflavine est de l'ordre de 1,75 mg/L.²¹

Dans les produits laitiers, le goût de lumière est principalement formé suite à la dégradation d'acides aminés (et de protéines) mais il peut aussi être formé suite à la dégradation de lipides. Il existe d'autres composés photosensibles dans le lait tels que des porphyrines ou des chlorines mais à des concentrations plus faibles.²² Les acides aminés pouvant être oxydés par la riboflavine sont nombreux et parmi eux, on peut citer la cystéine, l'histidine, le tryptophane ou la méthionine.^{23,24} Cependant, ce sont les acides aminés soufrés qui sont à l'origine de la formation du goût de lumière car leurs produits de dégradation sont fortement odorants. Ainsi, il a été prouvé que le principal acide aminé à l'origine du goût de lumière dans le lait est la méthionine.²³ De nombreuses études de 1960 à 1990 proposent que la méthionine peut réagir avec le triplet de la riboflavine pour former le méthional^{25,26} qui est ensuite dégradé en composés soufrés volatils malodorants tels que le méthaneithiol (MeSH) ou le diméthylsulfure (DMDS) (Schéma 1.4). Les premières études ont attribué le goût de

lumière au méthional et les suivantes ont postulé que ce sont en fait les molécules soufrées volatiles (MeSH et DMDS) issues de la dégradation du méthional qui sont responsables de l'apparition du goût de lumière.²⁷

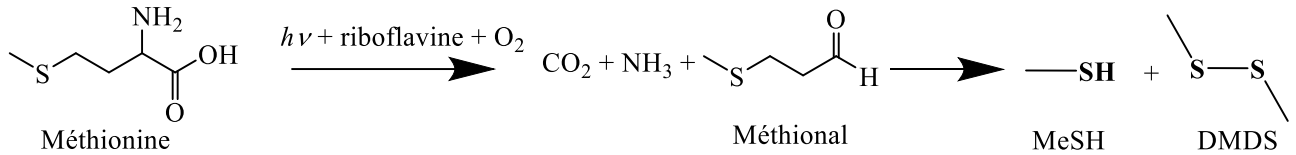


Schéma 1.4 : Formation du méthionol et du DMDS dans les produits laitiers.

Plus récemment, Cardoso & al. ont étudié en détail la réactivité du triplet de la riboflavine dans le lait et les produits alimentaires en général.²⁸ Ainsi, dans les années 2010, les auteurs ont proposé deux grands types de mécanismes possibles pour la photosensibilisation de substrats par la riboflavine (Schéma 1.5).

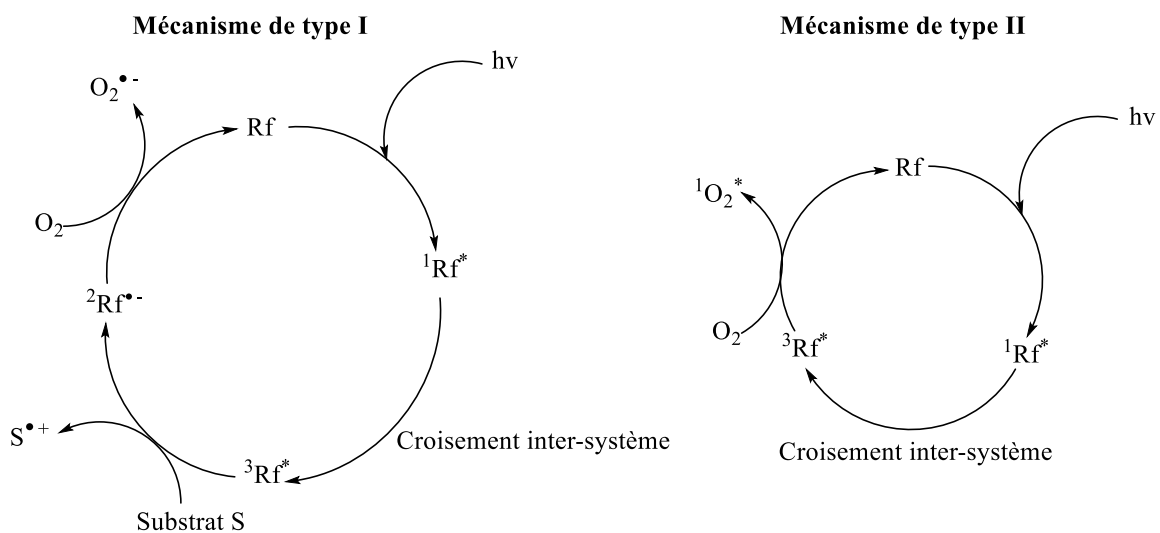


Schéma 1.5 : Photosensibilisation de la riboflavine selon un mécanisme de type I ou II.

Dans le mécanisme de type II, la riboflavine à l'état fondamental est excitée en riboflavine à l'état singulet. Puis, après un croisement inter-système, un état triplet est formé. Il réagit ensuite avec l'oxygène à l'état fondamental par transfert d'énergie pour former de l'oxygène singulet et de la riboflavine à l'état fondamental. Dans le mécanisme de type I, le triplet de la riboflavine oxyde cette fois un substrat S pour former le radical cation du substrat et le radical anion de la riboflavine. Si de l'oxygène est ajouté au milieu, il y a formation de l'anion superoxyde et de riboflavine à l'état fondamental. Le mécanisme de type II est favorisé

pour des milieux riches en oxygène et le mécanisme de type I pour des milieux pauvres en oxygène.

En se basant sur les mécanismes de type I et II, les auteurs ont alors proposé un mécanisme de formation du DMDS qui ne fait pas intervenir la formation du méthional et qui tient compte de la formation d'oxygène singulet en milieu fortement oxygéné (Schéma 1.6).

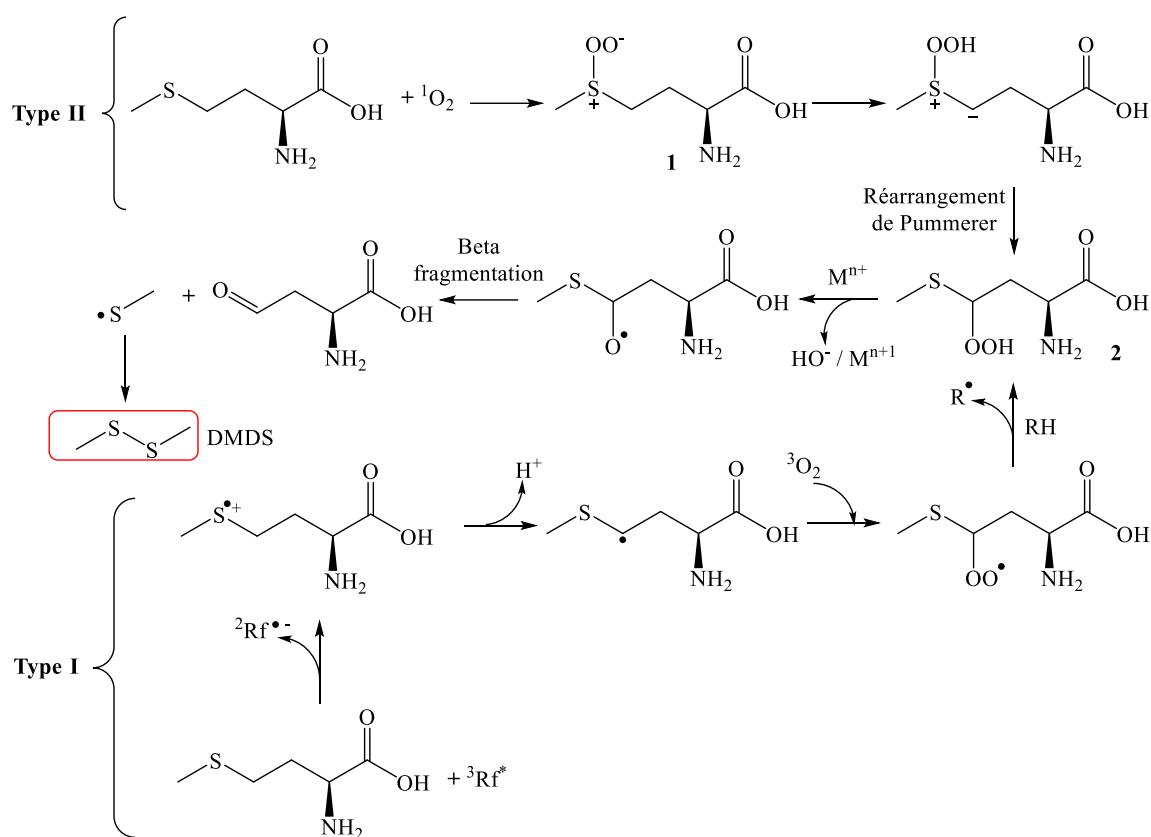


Schéma 1.6 : Proposition de la formation du DMDS suite à l'absorption de lumière par la riboflavine selon un mécanisme de type I ou de type II.²⁸

La partie haute de ce mécanisme fait intervenir le mécanisme de type II, c'est à dire en présence d'une forte teneur en oxygène. La méthionine est oxydée par l'oxygène singulet pour former l'espèce **1**. Après plusieurs étapes, l'hydroperoxyde **2** est obtenu. La partie basse, quant à elle, fait intervenir le mécanisme de type I dans lequel la riboflavine à l'état triplet oxyde préférentiellement la méthionine. Ainsi, après oxydation, il y a formation du radical anion de la riboflavine et du radical cation de la méthionine. Après abstraction d'hydrogène, un radical qui réagit avec de l'oxygène à l'état fondamental est formé pour finalement donner l'hydroperoxyde **2**. Cette espèce est alors dégradée en radical thiométhylique suite à la perte de

HO[•] et d'une β-fragmentation. Enfin, la recombinaison radicalaire entre deux radicaux thiométhyles permet de former le DMDS.

Les lipides peuvent être dégradés de plusieurs façons. Tout d'abord, ils peuvent réagir avec l'oxygène à l'état fondamental selon un mécanisme radicalaire classique (initiation, propagation, terminaison).²¹ Les lipides deviennent réactifs suite à une réaction d'abstraction d'hydrogène engendrée par un initiateur tel qu'un métal ou de la chaleur. Ce type d'oxydation ne fait pas intervenir la riboflavine et n'est donc pas le résultat d'un goût de lumière même si les produits formés peuvent être des composés soufrés volatils. Bien que le lait contienne majoritairement des acides gras saturés (environ 2/3 des lipides), il contient également des acides gras insaturés tels que l'acide oléique ou l'acide linoléique.²⁹ Ces derniers sont particulièrement sensibles à l'oxygène singulet formé après réaction de l'oxygène fondamental avec la riboflavine à l'état triplet. Les acides gras insaturés peuvent former des produits d'oxydation primaires : les hydroperoxydes (Schéma 1.7). Ces composés peu stables se décomposent ensuite en de nombreux produits d'oxydation secondaires tels que des aldéhydes (pentanal, hexanal...)^{21,30} ou des composés soufrés volatils (MeSH, DMDS)^{27,31,32}. En outre, plus l'acide gras possède d'insaturations et plus son taux d'oxydation est élevé du fait de la forte mésomérie présente dans ces molécules.³³

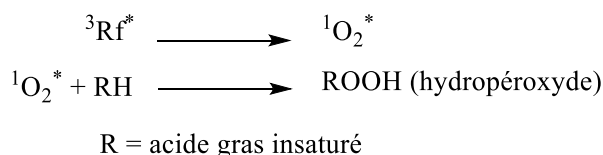


Schéma 1.7 : Formation d'oxygène singulet et d'hydroperoxyde à partir de riboflavine à l'état excité triplet.

Selon un mécanisme alternatif et très fortement minoritaire, la riboflavine à l'état triplet peut également arracher un hydrogène à un acide gras insaturé pour former un radical libre qui réagit avec l'oxygène à l'état fondamental (Schéma 1.8) :^{21,28}

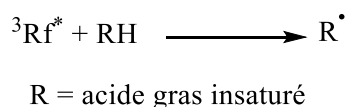


Schéma 1.8 : Formation de radicaux libres à partir d'acides gras insaturés.

De nombreuses études montrent que les longueurs d'onde entre 300 et 500 nm sont responsables de l'apparition du goût de lumière dans les produits laitiers.^{34,35} Cela s'explique par le fait que les rayons UV sont plus énergétiques et par le fait que la riboflavine absorbe majoritairement la lumière UV et la lumière bleue. Cependant, une étude de Trine & al. a montré que des longueurs d'onde entre 500 et 700 nm peuvent également mener à la formation de défauts dans le lait.²² Cela serait dû à la présence de dérivés de chlorophylles et de porphyrines qui absorbent la lumière dans cette gamme de longueurs d'onde et qui jouent le rôle de photosensibilisateurs dans ces réactions.

La formation du goût de lumière dans les produits laitiers et ceux contenant des acides gras est le résultat d'un mélange de produits de dégradation issus d'acides aminés et de lipides. Les produits soufrés volatiles, du fait de leur seuil de perception bas (0,2 µg/L pour le méthane-thiol et 19 µg/L pour le DMDS dans le lait), contribuent majoritairement à ce défaut.³⁶ Ces produits de dégradation issus de photoréactions peuvent être formés directement suite à une réaction entre la riboflavine à l'état triplet et les constituants du lait par transfert d'électron (mécanisme de type I) ou bien à travers la formation d'oxygène singulet (mécanisme de type II).

Les produits laitiers étant des aliments susceptibles de développer un goût de lumière, il est indispensable de les protéger. Comme pour la filière brassicole, les industriels peuvent utiliser deux types de protection : la protection physique ou l'amélioration de la stabilité du produit. La protection physique la plus répandue afin de protéger le lait est l'utilisation d'emballages complètement opaques tels que le polyéthylène haute densité (PE-HD) en mono ou en multicouches.³⁷ Ce type de polymère possède deux avantages : il est complètement opaque vis-à-vis de la lumière et il est également étanche à l'oxygène. Ce contenant permet donc d'éviter la formation du goût de lumière dans le lait. Des études sur d'autres types de contenants ont également été menées. Ainsi, du polytéréphtalate d'éthylène (PET) avec des pigments de couleur ou des filtres UV peut également être utilisé mais il est moins efficace.³⁸ Dans tous les cas, les contenants transparents sont à proscrire.

Le développement de méthodes permettant d'améliorer la stabilité du produit a également été envisagé mais elles ne sont pas utilisées par les fabricants car elles sont plus

coûteuses et moins efficaces. En 2005, une étude menée par Van Aardt & al. a évalué l'efficacité de l'ajout d'antioxydants naturels et artificiels afin de protéger les lipides du lait.¹⁹ Les auteurs ont montré que l'ajout d'antioxydants de synthèse est efficace pour protéger le lait mais il est nécessaire d'en ajouter régulièrement et il n'est plus possible de le faire une fois le lait embouteillé. Une étude menée par Jung & al. en 1998 a également montré que l'ajout d'acide ascorbique au produit permet de diminuer la quantité de DMDS formé, ce qui a été confirmé par une amélioration du profil gustatif du lait par un panel sensoriel.²⁷

Certaines études ont également évalué l'efficacité de produits naturels à désactiver le triplet de la riboflavine. La crocine est un caroténoïde hydrophile naturel qui possède des propriétés médicales et qui est présente dans le safran et certaines plantes. C'est une molécule très soluble dans l'eau en raison de la présence de chaînes latérales polyhydroxylées (Figure 1.2).

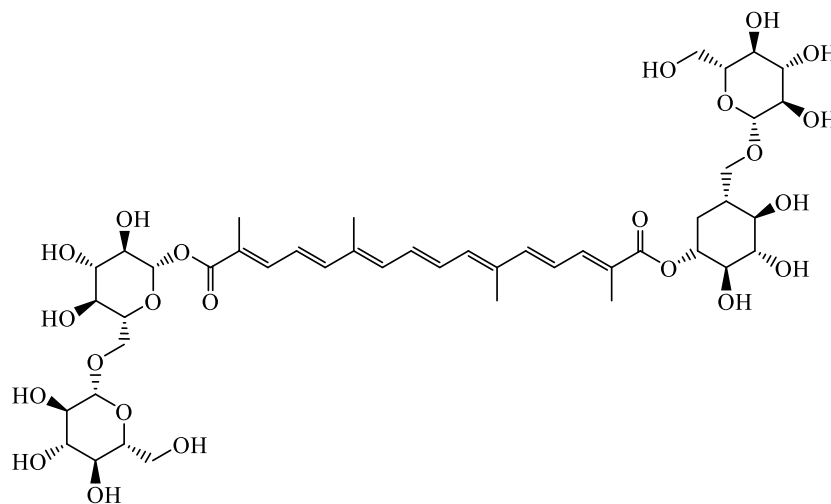
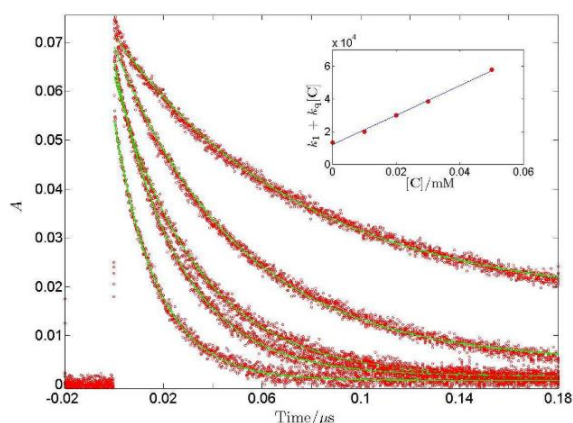


Figure 1.2 : Formule topologique de la crocine.

En 2012, Øyangen & al. se sont intéressés à la chimie de la crocine afin de protéger les produits laitiers.³⁵ Leurs travaux montrent que la crocine peut désactiver l'état triplet de la riboflavine par transfert d'électron et par transfert d'énergie. Ainsi, la présence de crocine accélère la décroissance exponentielle de l'état triplet de la riboflavine (Figure 1.3).



Molécule	k ($M^{-1}.cm^{-1}$)
Crocine	$9,00 \times 10^8$
Cystéine	$9,82 \times 10^7$
Histidine	$7,93 \times 10^7$
Méthionine	$4,52 \times 10^7$
Tryptophane	$1,79 \times 10^9$
Tyrosine	$1,25 \times 10^9$

Figure 1.3 : (à gauche) : Décroissance exponentielle de l'état triplet de la riboflavine sans crocine (courbe du haut) puis avec crocine à différentes concentrations à pH = 7 et à 296 nm. (à droite) : Constantes de vitesse de désactivation de l'état triplet de la riboflavine.³⁵ Reproduit avec permission.

Le tableau de la Figure 1.3 exprime les constantes de vitesse de désactivation de l'état triplet de la riboflavine. La constante de vitesse de désactivation de la riboflavine avec la crocine est plus grande que celle de la désactivation avec la méthionine. Cependant, ces résultats sont à nuancer avec une autre étude de Cardoso & al. qui montre que la crocine ne peut pas désactiver l'état triplet de la riboflavine à des pH plus acides.³⁹ Les auteurs ont également évalué l'efficacité des tocophérols, du trolox, de l'ascorbate et d'autres caroténoïdes à réagir avec le triplet de la riboflavine à un pH de 6,4.³⁹ Ils ont montré que les tocophérols, le trolox et les ascorbates peuvent réagir efficacement avec le triplet de la riboflavine, contrairement aux caroténoïdes. Ces espèces peuvent protéger le lait de la formation du goût de lumière en désactivant préférentiellement le triplet de la riboflavine par rapport à l'oxygène ou les acides aminés soufrés.

1.3 Le goût de lumière dans l'industrie du vin et du Champagne

1.3.1 Définition et caractéristiques

La lumière est considérée comme un danger pour le vin dès le XVIII^{ème} siècle. Cependant, ce n'est qu'au début des années 1980 que ce phénomène a réellement été étudié en détail. Trois principaux facteurs sont à l'origine de l'augmentation du goût de lumière dans le Champagne.⁴⁰ Premièrement, le mode de commercialisation du Champagne a été

grandement modifié. En effet, le commerce de proximité a diminué au profit des ventes en grandes surfaces et les bouteilles sont donc exposées pendant plus longtemps à la lumière sur les étagères. De plus, le verre utilisé pour fabriquer les bouteilles a progressivement été modifié. La mise en place du recyclage du verre a entraîné des changements dans sa composition et son pouvoir filtrant a diminué. Enfin, la composition du vin a également changé du fait de l'évolution des modes de culture et des méthodes de vinification. Partant de ce constat, des dispositions ont été prises afin de minimiser l'apparition du goût de lumière. Cela se traduit notamment par la modification du type d'éclairage ainsi que par l'utilisation de verres ayant un pouvoir de protection plus important.

Le goût de lumière dans le vin et le Champagne peut être décrit ainsi : c'est une modification olfactive et gustative du produit suite à une exposition prolongée à la lumière artificielle ou naturelle. Ce défaut entraîne l'apparition d'odeurs rappelant le chou cuit, le chou-fleur ou encore la serpillère.^{40,41} Au niveau gustatif, le vin développe une amertume prononcée. Ce défaut est généralement observé dans les vins blancs et les vins effervescents mais il peut aussi apparaître dans les vins rosés. Le vin rouge est moins à risque car il possède une couleur plus foncée ainsi que des tanins qui sont de très bons antioxydants.⁴² Le graphique ci-dessous indique les spectres de transmission de différents types de vin en fonction de la longueur d'onde (Figure 1.4).⁴³ Les longueurs d'onde critiques correspondent aux maximum d'absorption de la molécule responsable du goût de lumière dans les vins blancs et les Champagnes : la riboflavine.

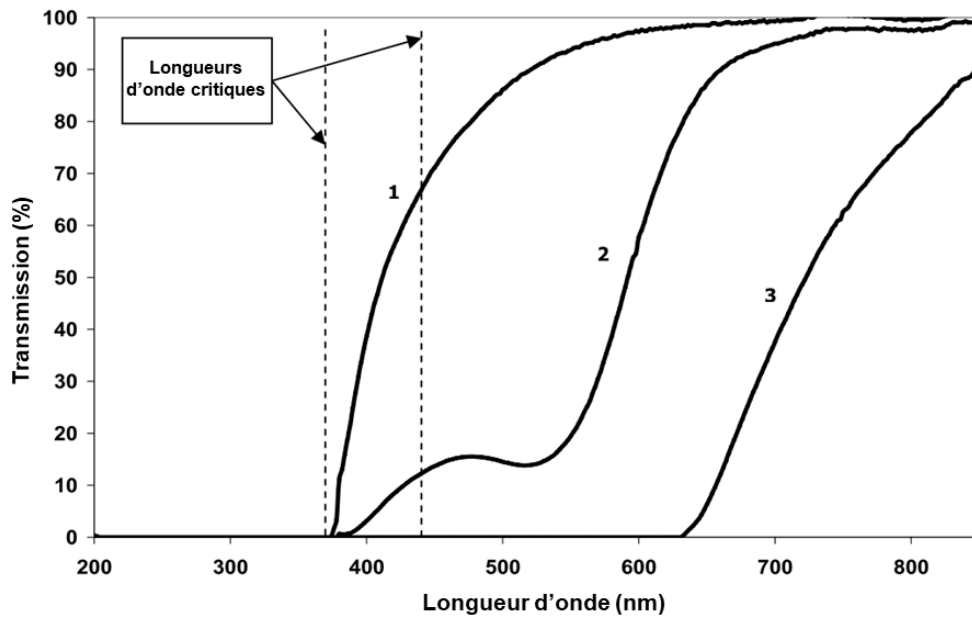


Figure 1.4 : Transmission de différents types de vin en fonction de la longueur d'onde (%). (1) = vin blanc ; (2) = vin rosé ; (3) = vin rouge.⁴³ Reproduit avec permission.

Le Champagne est potentiellement plus sensible aux rayonnements lumineux que le vin car il est plus riche en acides aminés et en riboflavine. En effet, celui-ci est élevé sur lies et est en contact pendant au moins douze mois avec les restes de levures ce qui lui confère cette richesse en acides aminés et en riboflavine.⁴⁴ La composition des vins blancs élevés sur lies ainsi que des vins effervescents est présentée dans le Tableau 1.1.

Composé	Concentration
Riboflavine	160 à 320 µg/L ⁴⁴
Méthionine	8-10 mg/L ⁴⁵
Sulfites libres	20-185 mg/L ⁴⁶
Sucres	3-50 g/L ⁴⁷
pH	3-3,5 ⁴⁸
Acide tartrique	2-6 g/L ⁴⁸
Ethanol	11-13 % ⁴⁸

Tableau 1.1 : données sur la composition des vins blancs élevés sur lies et des vins effervescents.

De plus, les vins et les Champagnes contiennent de nombreuses espèces soufrées volatiles. Lors de la formation du goût de lumière, les concentrations en méthanethiol, diméthylsulfure et diméthyltrisulfure augmentent.⁴⁹ Le Tableau 1.2 résume les notes aromatiques ainsi que les seuils de perception associés à plusieurs espèces soufrées pouvant être présentes dans les vins.

Composés	Note aromatique	Seuil de perception olfactif
Sulfure d'hydrogène	Souffré, œuf pourri	1 – 2 µg/L dans le vin ⁵⁰
Méthanethiol	Chou cuit, putréfaction	1,8 – 3,1 µg/L dans le vin blanc ⁵¹
Diméthylsulfure	Chou cuit, oignon	20 - 45 µg/L dans le vin blanc
Diméthylsulfure	Chou, asperge	10 – 160 µg/L dans le vin
Méthional	Purée, oignon	0,5 µg/L dans le vin
Diméthyltrisulfure	Oignon, légumes	0,1 µg/L dans la bière ⁵²

Tableau 1.2 : Seuils de perception olfactifs et notes aromatiques de quelques espèces soufrées.⁵³

Le processus de formation du goût de lumière dans les vins et les Champagnes est en partie similaire à celui observé dans le lait. En effet, c'est la photooxydation des acides aminés soufrés par la riboflavine qui est à l'origine de la formation des espèces soufrées volatiles malodorantes.⁴⁹ Cependant, le mécanisme est largement moins décrit dans la littérature que pour le lait ou la bière.

1.3.2 Paramètres pouvant favoriser l'apparition du goût de lumière dans les vins et les Champagnes

Les vins et les Champagnes sont des produits complexes contenant de nombreuses molécules. La riboflavine, les acides aminés soufrés et la longueur d'onde d'émission de la lumière sont les principaux facteurs pouvant influencer la formation du goût de lumière mais d'autres composés présents dans cette matrice complexe peuvent également jouer un rôle. Il est donc nécessaire de prendre en compte tous les composés pouvant avoir une influence sur la formation du goût de lumière pour comprendre pleinement son apparition.

1.3.2.1 La longueur d'onde de la source lumineuse

Le spectre d'émission de la source lumineuse a un impact important sur la formation du goût de lumière. En effet, la riboflavine possède des maximums d'absorbance entre 300 et 500 nm. Il faut éviter d'utiliser des sources lumineuses contenant des longueurs d'onde d'émission entre 300 et 500 nm et il faut donc privilégier l'utilisation de lumières orange par exemple. Le type de lampe choisi pour l'éclairage des caves chez les producteurs de Champagne joue donc un rôle important dans la formation du goût de lumière.

1.3.2.2 La riboflavine

La riboflavine est une vitamine qui a pour la première fois été mise en évidence par Blyth en 1879²⁰. Ce composé a ensuite été étudié plus en détail par Chick & Roscoe⁵⁴ puis par György⁵⁵, Kuhn⁵⁶ et Karrer⁵⁷. Il a été isolé dans des aliments et le vin plus tard au cours du XX^{ème} siècle. Son nom vient de « flavus », qui signifie jaune en latin. La riboflavine est photosensible, photooxydante et possède une solubilité limitée dans l'eau (0,07 g/L à 20°C).²⁰ On la trouve dans de nombreux aliments à la fois d'origine animale et végétale. La riboflavine est présente à haute concentration dans les œufs, le foie, les produits laitiers et les boissons alcoolisées fermentées telles que la bière et le vin.²⁸ C'est d'ailleurs cette molécule qui contribue à donner au vin blanc sa couleur jaune caractéristique. La structure de la riboflavine est présentée ci-dessous (Figure 1.5).

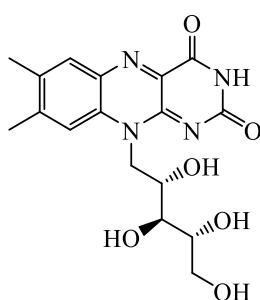


Figure 1.5 : Formule topologique de la riboflavine.

La molécule de riboflavine comporte un noyau isoalloxazine qui lui confère son caractère photosensible ainsi qu'une chaîne D-ribityle. La riboflavine est un oxydant fort qui peut réagir avec des radicaux libres susceptibles d'endommager l'ADN. Les hommes et les animaux ne peuvent pas synthétiser la riboflavine et doivent donc se la procurer par leur

alimentation. En effet, seuls certaines plantes et micro-organismes peuvent la synthétiser. Cependant, sous l'action de flavokinase ou de FAD synthétase, la riboflavine peut être respectivement transformée en ses formes biologiquement actives : la FMN et la FAD. La FMN correspond à de la riboflavine phosphorylée et la FAD à de la riboflavine adénylée (Figure 1.6). Elles participent en tant que co-facteurs dans les flavoprotéines pour une grande variété de réactions métaboliques. La formation de FMN et FAD est fortement dirigée par la nutrition, les hormones et les médicaments. Par exemple, l'enzyme NADPH cytochrome P450 contient du FMN et de la FAD en tant que groupes prothétiques.⁵⁸

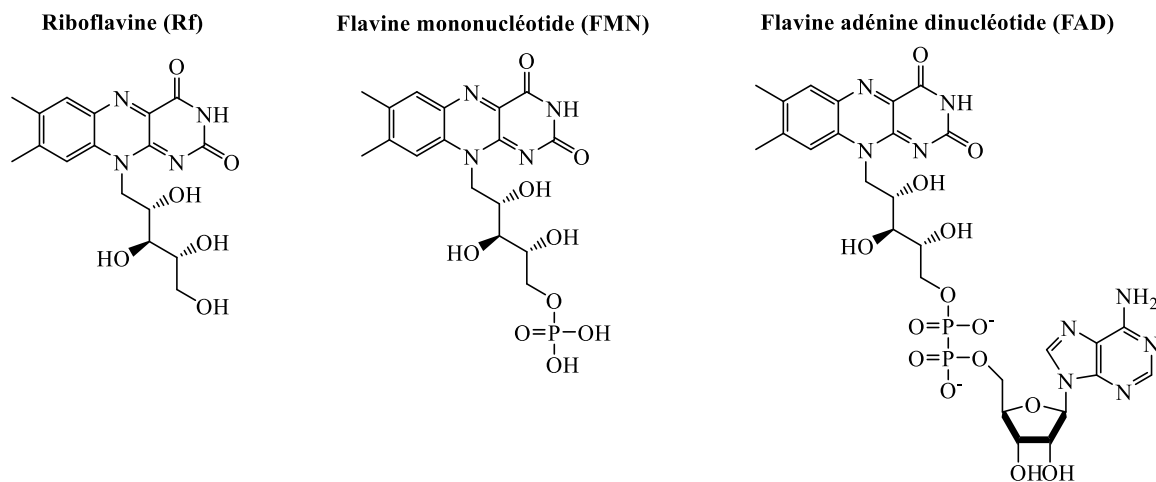


Figure 1.6 : Formules topologiques de la riboflavine et de ses dérivés biologiquement actifs (FMN et FAD).

Les propriétés physico-chimiques des flavines leur sont conférées par leur cycle isoalloxazine. En effet, la riboflavine existe sous plusieurs états d'oxydo-réduction : la forme oxydée, la forme semi-quinone réduite d'un seul électron et la forme hydroquinone complètement réduite. Ces états redox jouent un rôle sur la géométrie du cycle isoalloxazine puisque les formes oxydées et semi-quinones sont planes contrairement à la forme hydroquinone (Figure 1.7).⁵⁹

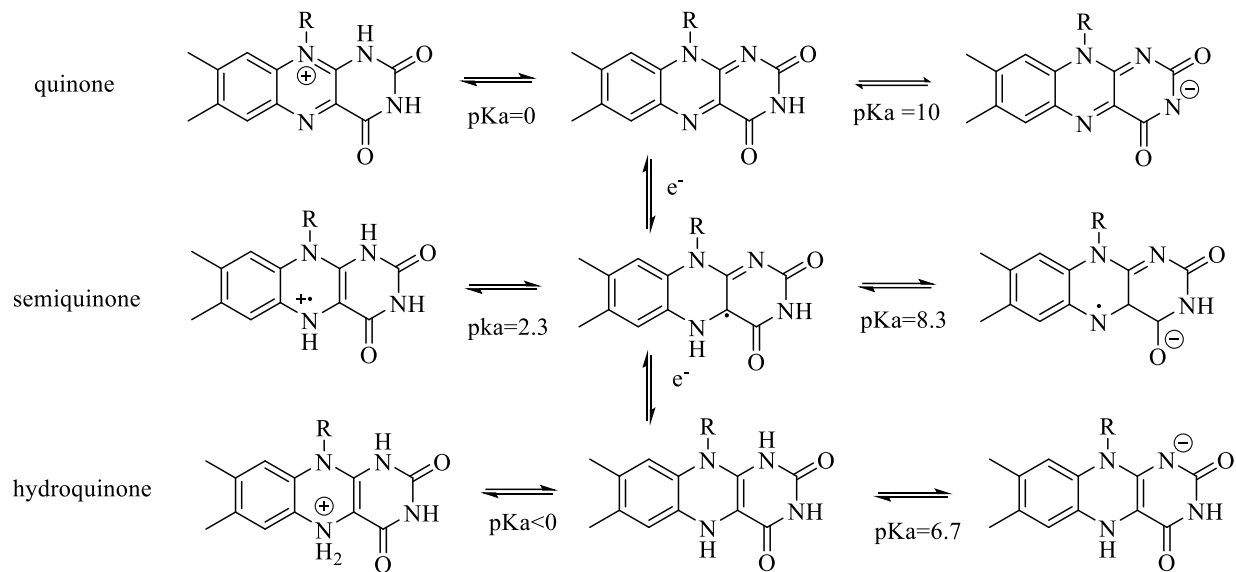


Figure 1.7 : Etats d'oxydo-réduction des flavines.

Dans les vins, la riboflavine est produite par la fermentation alcoolique des baies de raisin suite à l'action spontanée des levures, puis par l'ajout de levures supplémentaires (ensemencement). En général, la teneur en riboflavine serait de 8 à 133 $\mu\text{g/L}$ dans les vins blancs et de 0,47 à 1,9 $\mu\text{g/L}$ dans les vins rouges.⁴⁵ Une autre étude menée sur des vins italiens expose des teneurs similaires pour les vins blancs mais des valeurs beaucoup plus importantes pour les vins rouges : entre 156 et 292 $\mu\text{g/L}$.⁶⁰ Ces différences peuvent s'expliquer par le type de vin ainsi que par la méthode d'analyse utilisés qui ne sont pas les mêmes. Les vins effervescents contiennent en général plus de riboflavine car ils sont élevés sur lies : entre 160 et 318 $\mu\text{g/L}$.⁴⁴ Logiquement, la plupart des vins ayant une concentration en riboflavine importante ont plus de chance de développer un goût de lumière. Cependant, une étude menée en 2000 par Mattivi & al. présente certains résultats surprenants.⁶¹ En effet, les auteurs ont montré que certains vins contenant une concentration en riboflavine importante (autour de 150 $\mu\text{g/L}$) ne développent pas le goût de lumière tandis que certains ayant des concentrations en riboflavine plus modestes (autour de 100 $\mu\text{g/L}$) développent un goût de lumière important. Il existe donc d'autres facteurs que la concentration en riboflavine qui peuvent influencer l'apparition du goût de lumière. Les auteurs suggèrent que la teneur en polyphénols ou la présence d'ions métalliques joueraient un rôle mais sans en apporter la preuve directe.

Il est possible de classer les vins et les Champagnes en fonction du risque qu'ils développent un goût de lumière. Ainsi, on considère qu'une concentration en riboflavine supérieure à 200 µg/L entraîne un risque important d'apparition du goût de lumière alors qu'une concentration inférieure à 50 µg/L le minimise.⁶² Le Tableau 1.3 permet de résumer les concentrations en riboflavine ainsi que les sensibilités pour chaque vin :

Type de vin	Blancs	Rouges	Effervescents
Teneur en riboflavine (µg/L)	8 à 250	0,5 à 290	160 à 320
Sensibilité	Faible à forte	Faible	Moyenne à forte

Tableau 1.3 : Sensibilité des différents types de vin en fonction de leur teneur en riboflavine.

1.3.2.3 Les acides aminés

La formation du goût de lumière dans un vin ou un Champagne est due à la photooxydation d'acides aminés soufrés par la riboflavine menant à la formation d'espèces soufrées volatiles malodorantes. Une étude de Fracassetti & al. a montré qu'il existe une corrélation entre la concentration en méthionine dans un vin et sa sensibilité face à la formation du goût de lumière.⁶³ Ainsi, plus un vin contient de méthionine et plus il est à risque. Au pH du vin et du Champagne (autour de 3,5), la méthionine se trouve sous la forme zwitterionique (Figure 1.8) :

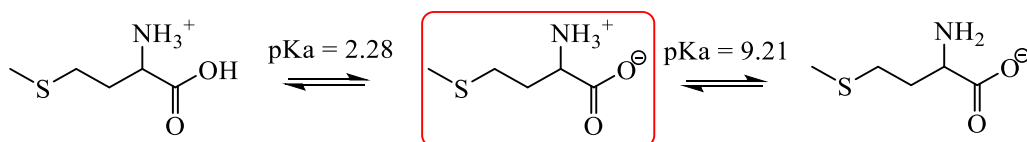


Figure 1.8 : Formes chimiques dominantes de la méthionine en fonction du pH.

Dans les vins, la méthionine et la cystéine ne sont pas les acides aminés présents à la plus forte concentration mais ils sont les seuls à mener à la formation du goût de lumière. En moyenne, la méthionine est présente dans les Champagnes à une concentration de 10 mg/L et la cystéine n'est quasiment pas présente.⁴⁵ Cependant, l'élevage sur lies de certains vins blancs et des Champagnes peut modifier les quantités d'acides aminés présentes dans les vins.³ En effet, le Champagne s'enrichit en de multiples composés incluant les acides aminés et la riboflavine.³ C'est pour cette raison que tous les vins n'ont pas la même sensibilité face à

l'apparition du goût de lumière et que, dans certains cas, celle-ci peut augmenter avec la durée de l'élevage sur lies.

1.3.2.4 Les glucides et les sulfites

Les sucres et les sulfites sont les composés les plus abondants dans les vins après l'éthanol. En effet, selon le type de Champagne, la concentration en sucres varie de 3 à plus de 50 g/L.⁴⁷ Les concentrations en sulfites libres se situent entre 20 et 185 mg/L.⁴⁶ En 1999, Silva & al. ont montré que le glucose est lentement oxydé en présence de riboflavine et d'une source de lumière. Les auteurs ont montré que la cinétique de photoconversion du glucose est proportionnelle à la concentration en riboflavine.⁶⁴ Cependant, ce phénomène est favorisé pour des pH neutres ou basiques. La dégradation du glucose serait également moins efficace que celle des acides aminés ou des lipides. Certains sucres peuvent également réagir avec des ions sulfites via le mécanisme présenté dans le Schéma 1.9. En effet, en 1953, Braverman a montré que les sulfites peuvent réagir avec la fonction aldéhyde des monosaccharides réducteurs (par exemple le glucose) par addition nucléophile.⁶⁵ Cependant, cette addition ne peut se faire que sur les sucres à chaîne ouverte et pas sur les sucres sous forme cyclique. Ces deux formes sont en équilibre en solution aqueuse.

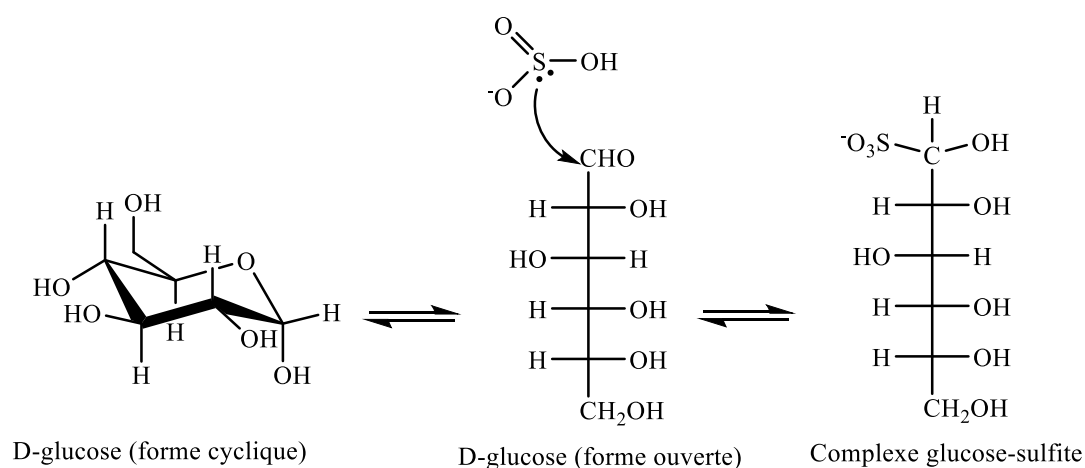


Schéma 1.9 : Formation d'un complexe glucose-sulfite.

L'équilibre qui en résulte dépend fortement de la structure du sucre, de sa concentration et surtout du pH de la solution étudiée. Un pH compris entre 5 et 7 serait optimal pour former ces complexes tandis que des pH acides favoriseraient leur dissociation.

Des expériences préliminaires effectuées par M. Lahoucarde en 2016 au sein du laboratoire ont montré que la présence d'un mélange sucre / bisulfite de sodium peut ralentir la dégradation de la riboflavine lors de la formation du goût de lumière.⁶⁶

1.3.2.5 Les fongicides et pesticides

De nombreuses maladies telles que le « *mildiou* » ou le « *botrytis* » peuvent affecter la qualité de la vigne et, par conséquent, la qualité du vin. Afin de s'en protéger, certains viticulteurs choisissent d'utiliser des fongicides et des pesticides. Cependant, l'utilisation de pesticides est très règlementée dans la viticulture et ils sont présents à l'état de traces. Ces produits contiennent des molécules soufrées telles que les dithiocarbamates qui se réduisent en acides dithiocarbamiques en milieu acide. Ces composés sont peu stables et se décomposent en isothiocyanates ainsi qu'en composés soufrés tels que le sulfure d'hydrogène et le disulfure de carbone (Schéma 1.10).⁴⁵

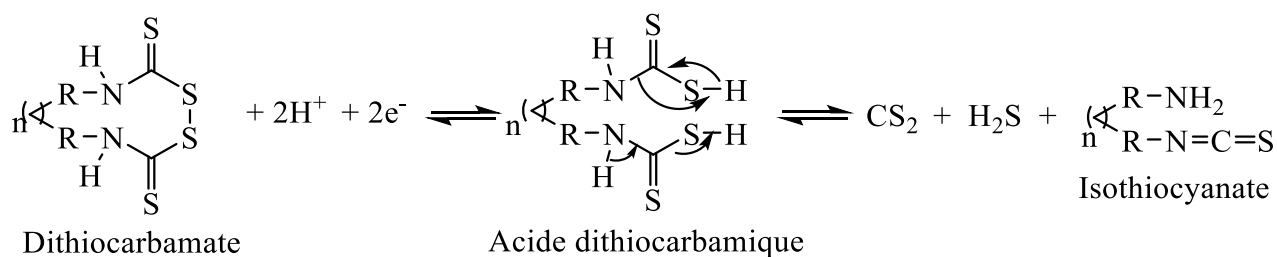


Schéma 1.10 : Décomposition des dithiocarbamates en milieu acide ($n > 2$).

Ces espèces sont fortement odorantes et peuvent participer au développement d'une odeur soufrée non désirée.

L'acéphate est une molécule présente dans de nombreux insecticides et contient un substituant thiométhyle. L'hydrolyse lente de cette molécule peut conduire à la formation de méthanthiol et de DMDS. Le Schéma 1.11 ci-dessous résume le mécanisme de formation de ces espèces soufrées volatiles.⁴⁵

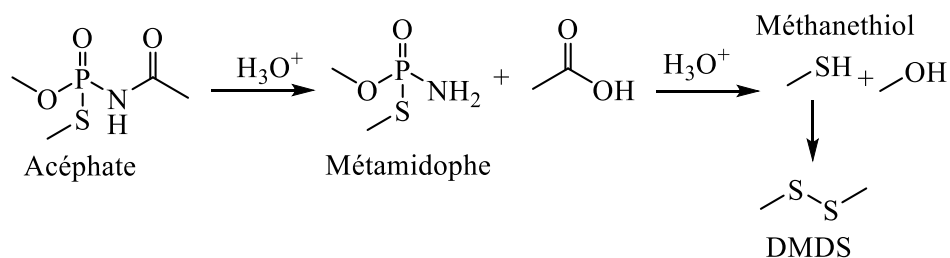


Schéma 1.11 : Hydrolyse de l'acéphate en milieu acide.

Il est important de préciser que l'hydrolyse de l'acéphate se fait très lentement et que cette molécule est actuellement interdite pour traiter les vignes. Les dithiocarbamates et l'acéphate ne mènent donc pas à la formation du goût de lumière car ce n'est pas l'action de la lumière qui entraîne l'apparition de ces défauts. Cependant, les produits de dégradation sont similaires à ceux formés lors de l'apparition du goût de lumière et il faut donc être sensibilisé à l'existence de ces sources de soufre.

1.3.2.6 Les esters d'acide gras

Une étude menée par D'Auria en 2003 suggère que la dégradation des esters d'acide gras peuvent modifier le profil aromatique du Champagne.⁴¹ En effet, les auteurs postulent que les esters sont oxydés suite à l'action de la riboflavine à l'état triplet selon un mécanisme similaire à celui existant dans les produits laitiers. Cependant, la décomposition des esters est seulement de l'ordre de 9% dans des solutions modèles.

1.3.3 Etat de l'art sur la compréhension du mécanisme de formation du goût de lumière dans les vins et les Champagnes

En 1983, Maujean & al. ont mis en évidence la formation d'espèces soufrées volatiles suite à l'irradiation d'une solution modèle contenant de la méthionine, de la cystéine et de la riboflavine.⁴⁹ Ils ont alors observé la formation de sulfure d'hydrogène, de méthanethiol et de DMDS. Les auteurs ont également montré que l'ajout de méthionine, de cystéine et de riboflavine à du Champagne accélère la formation des espèces soufrées volatiles pendant l'irradiation du produit. Dans cette étude, Maujean & al. ont également mesuré l'absorbance des solutions irradiées et ils ont mis en évidence la réduction de la riboflavine. En effet, la riboflavine à l'état réduit est incolore et l'absorbance des solutions avait diminué. Ils en ont donc déduit que l'exposition du vin et du Champagne à la lumière excite la riboflavine vers un

état singulet qui, après croisement inter-système, forme un état triplet. Celui-ci oxyde ensuite la méthionine par transfert d'électron. Maujean & al. ont alors proposé le mécanisme présenté sur le Schéma 1.12 pour expliquer la formation du méthanethiol et du DMDS.

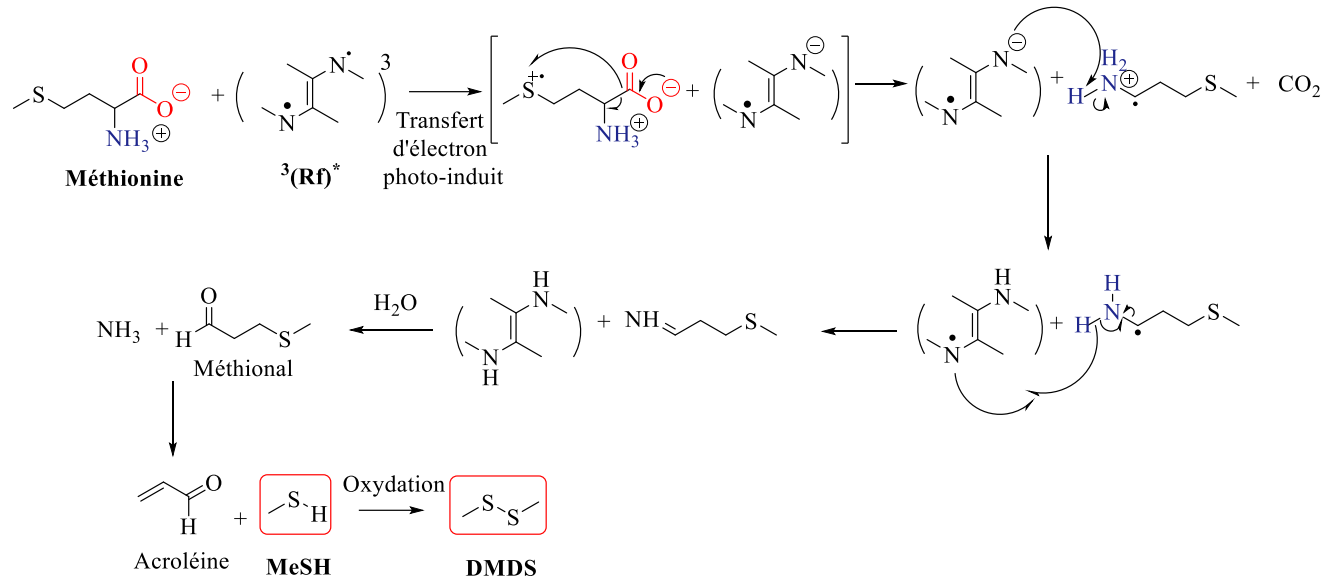


Schéma 1.12 : Mécanisme de formation du méthanethiol et du DMDS suite à l'absorption de lumière par la riboflavine selon Maujean & al.⁴⁹

Dans un premier temps, la riboflavine absorbe un photon pour former un état excité singulet qui évolue vers un état triplet par un croisement inter-système. Cet état triplet oxyde ensuite la méthionine par transfert d'électron photoinduit. Il y a alors formation du radical cation de la méthionine et du radical anion de la riboflavine. Ensuite, une décarboxylation intramoléculaire s'opère pour conduire à la formation d'un radical α -ammonium. Le radical anion de la riboflavine peut alors déprotoner le radical α -ammonium pour former une molécule de riboflavine à l'état semi-réduit et un α -amino radical. Après abstraction d'hydrogène par la riboflavine, il y a formation d'une imine ainsi que de riboflavine à l'état complètement réduit. Après hydrolyse de l'imine, il y a formation d'ammoniac et de méthional. Le méthional peut ensuite subir une réaction de type rétro-Michael pour former l'acroléine et le méthanethiol qui, par oxydation directe, forme le DMDS. Ce mécanisme est communément admis dans la littérature et est souvent cité en tant que référence pour expliquer la formation du goût de lumière dans les vins et les Champagnes.

En 1967, Yang & al. ont montré qu'en présence de lumière et de FMN (une forme biologiquement active de la riboflavine), la méthionine est dégradée en éthylène.⁶⁷ Selon les

auteurs, il existe plusieurs chemins de dégradation de la méthionine en éthylène. La première se fait selon un mécanisme similaire à celui proposé par Maujean & al. : la FMN à l'état triplet oxyde la méthionine par transfert d'électron photoinduit et après plusieurs étapes, il y a formation de méthional, de dioxyde de carbone et d'ammoniaque. Ensuite, la FMN à l'état triplet oxyde le méthional pour former le radical anion de la FMN et le radical cation du méthional. Comme leurs expériences ont lieu en milieu basique (pH = 8,5), une addition nucléophile des ions HO⁻ permet de former le méthanethiol, le DMDS, l'éthylène et l'acide formique (Schéma 1.13).

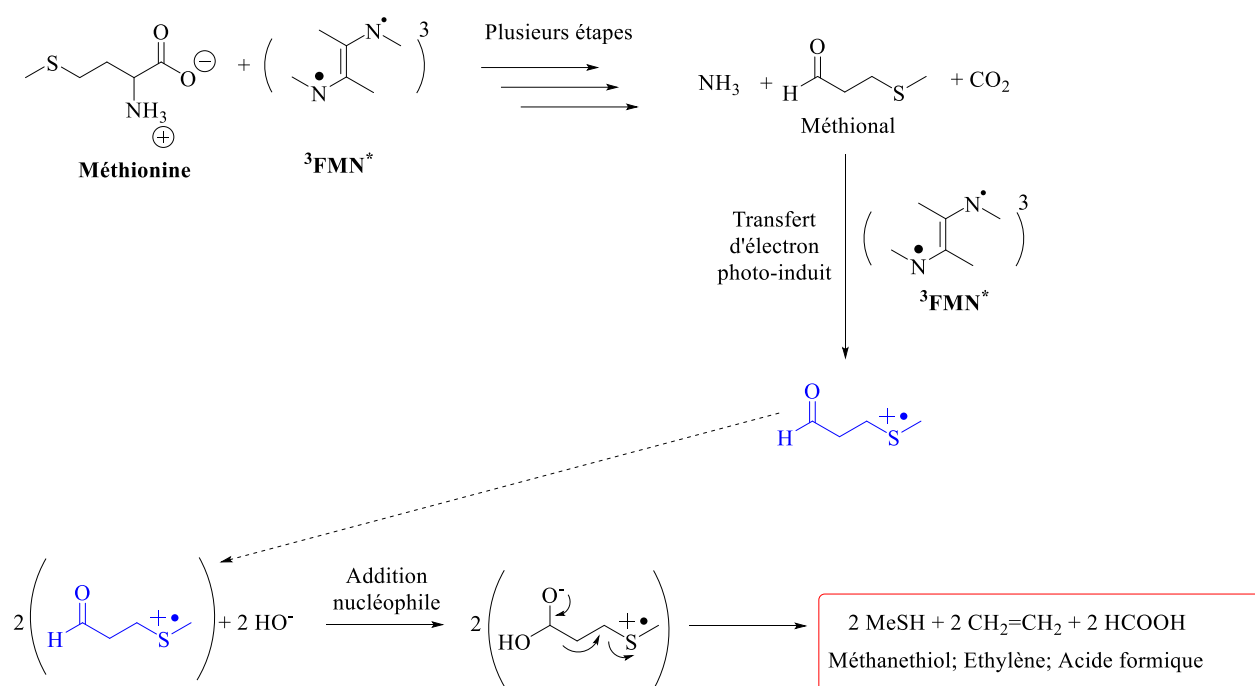


Schéma 1.13 : Mécanisme de formation de l'éthylène à partir de méthionine et de FMN en milieu basique.

On retrouve dans ce mécanisme la plupart des espèces formées dans celui de Maujean & al. Cependant, la formation d'éthylène n'est pas expliquée dans le mécanisme de Maujean & al. en raison du pH acide du Champagne et donc de l'absence d'anions hydroxydes. Ces deux mécanismes ne proposent également pas le même schéma réactionnel pour la formation du méthanethiol et du DMDS.

Selon Yang & al., la méthionine peut aussi être dégradée selon un autre mécanisme qui mène à la formation d'éthylène, de méthanethiol, de DMDS, d'ammoniaque et d'acide formique suite à un transfert d'électron photoinduit entre la FMN à l'état triplet et la

méthionine.⁶⁷ Ces auteurs ont montré par des expériences de radio-traçage que l'éthylène provient des carbones en position 3 et 4 de la molécule de méthionine, que le méthanethiol et le DMDS proviennent du carbone 5, que l'acide formique provient du carbone 2 et que le dioxyde de carbone provient du carbone 1, sans donner de mécanisme de formation précis pour cette voie (Figure 1.9).

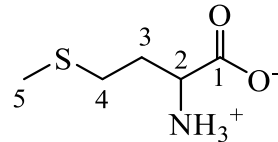


Figure 1.9 : Formule topologique de la méthionine avec numérotation des carbones.

Les auteurs précisent que le rendement d'éthylène formé avec leurs conditions expérimentales serait d'environ 50% pour chaque mécanisme de formation

Plusieurs études sur le mécanisme de formation du goût de lumière ainsi que sur des moyens d'empêcher son apparition ont été réalisées par Fracassetti & al. En 2017, ces auteurs ont publié une étude sur l'influence du type de levure utilisé pour la fermentation du vin sur la production de riboflavine.⁶² Ils ont montré que la quantité de riboflavine obtenue après vinification est directement dépendante du type de levure utilisé et des nutriments qui la composent (sur 15 souches, entre 30 et 170 µg/L de riboflavine ont été mesurés avec 3 souches ayant une concentration supérieure à 100 µg/L). Par ailleurs, la contribution en riboflavine présente initialement dans les raisins avant la fermentation est souvent minoritaire (entre 3 et 60 µg/L).⁶⁸ Pour rappel, un vin est considéré comme à risque pour des teneurs en riboflavine supérieures à 100 µg/L.⁶¹ Afin de limiter le risque d'apparition du goût de lumière, les auteurs préconisent donc l'utilisation de levures qui entraînent de faibles teneurs en riboflavine et en méthionine. En effet, les levures qui mènent à de fortes concentrations en riboflavine produisent également de forts taux en méthionine.⁶²

Pour des vins artificiels à forte teneur en riboflavine (350 µg/L) et donc à risque face à l'apparition du goût de lumière, Fracassetti & al. ont montré qu'un traitement avec des adsorbants inorganiques tels que du charbon actif ou de la bentonite à haute concentration permet de diminuer jusqu'à 100% de la quantité initiale de riboflavine. (Figure 1.10).

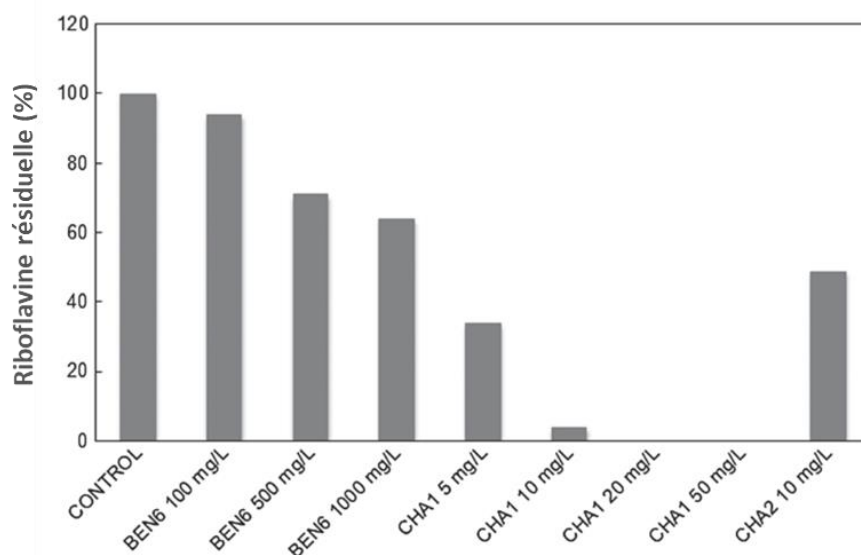


Figure 1.10 : Concentration résiduelle en riboflavine dans des solution modèles de vin contenant 350 µg/L de riboflavine et traitées avec de la bentonite (BEN6) et du charbon (CHA1 et CHA2) à plusieurs concentrations.⁶² Reproduit avec permission.

Le charbon actif et la bentonite ont la propriété d’adsorber la riboflavine. Cependant, les résultats sur des vins authentiques sont plus contrastés du fait de la compétition avec d’autres espèces telles que les protéines ou les phénols (Tableau 1.4). En effet, même avec 100 mg/L de charbon et 24h de traitement, une diminution de 71% de la quantité résiduelle de riboflavine au maximum est observée.

Charbon activé (mg/L)	Riboflavine résiduelle (%)			
	Vin de type Chardonnay		Solution modèle de vin	
	2 h	24 h	2 h	24 h
0	100	100	100	100
5	88	85	43	35
10	84	83	13	8
50	46	42	0	0
100	30	29	0	0

Tableau 1.4 : Effet de la concentration en charbon activé et du temps de traitement sur la quantité résiduelle en riboflavine dans des solutions modèles de vin et dans du Chardonnay (350 µg/L de riboflavine pour chaque échantillon).⁶²

La diminution de la concentration en riboflavine peut entraîner une atténuation de la couleur du vin obtenu. En effet, la riboflavine contribuant à la coloration caractéristique des

vins blancs, une diminution de la quantité de riboflavine dans le vin peut donc être problématique. De plus, ces adsorbants ne sont pas sélectifs de la riboflavine et ils peuvent adsorber d'autres espèces ce qui peut avoir comme effet de modifier le profil sensoriel du vin.

Dans une autre étude publiée en 2019, Fracassetti & al. ont montré que l'augmentation de la concentration en méthionine dans des solutions modèles de vin entraîne l'augmentation de la concentration en espèces soufrées volatiles formées.⁶³ En fait, la concentration en méthionine aurait même un impact plus important que celle de la riboflavine. La concentration en méthionine obtenue dans le vin à l'issue de la fermentation est donc également un facteur prépondérant dans la formation du goût de lumière. De plus, les auteurs ont évalué l'influence de l'ajout de tanins hydrolysables sur la formation du goût de lumière dans des solutions modèles de vin. L'ajout de tanins permet de diminuer la quantité d'espèces soufrées volatiles formées en conditions aérobie et anaérobie car ils entrent en compétition avec la méthionine et l'oxygène pour réagir avec le triplet de la riboflavine. D'un point de vue œnologique, l'ajout de tanins n'est pas sans conséquence sur le vin. En effet, l'ajout de tanins peut modifier la sensation du vin en bouche. Cependant, la concentration ajoutée pour cette étude (40 mg/L) ne devrait pas augmenter l'amertume du vin.⁶⁹ Cette étude ayant été réalisée sur des solutions modèles, l'efficacité de l'ajout de tanins sur des solutions authentiques doit encore être prouvée.

Enfin, dans cette étude, les auteurs ont évalué l'effet de l'ajout de sulfites sur la dégradation de la méthionine. Les auteurs ont montré que l'ajout de SO₂ entraîne une dégradation de la méthionine plus importante en condition aérobie. En effet, le SO₂ consomme indirectement de l'oxygène en réagissant avec des produits d'oxydation tels que le peroxyde d'hydrogène ou les *o*-quinones ce qui entraîne une accélération du taux de consommation de l'oxygène.⁴⁵ Cela a pour effet de favoriser un mécanisme de type I dans lequel la riboflavine oxyde la méthionine. Cependant, l'analyse sensorielle montre que la perception du goût de lumière est atténuée lorsque du SO₂ est ajouté. Cela est possiblement dû à l'oxydation du méthaneithiol formé en son sulfoxyde correspondant et à l'oxydation de la méthionine en méthionine sulfoxyde.

1.4 La photochimie de la riboflavine

La formation du goût de lumière dans les vin et les Champagnes est due à la réaction entre la riboflavine à l'état triplet et des acides aminés soufrés. C'est donc la riboflavine qui est l'élément déclencheur de l'apparition de ce défaut. Afin de pleinement comprendre ce phénomène, il est donc nécessaire de connaître en détail la photoréactivité de la riboflavine.

1.4.1 Rappels théoriques de photochimie⁷⁰

1.4.1.1 Absorption de la lumière par des molécules organiques

La photochimie est une science qui étudie les transformations chimiques des molécules sous l'action de la lumière. Elle concentre l'ensemble des études dont le but est de déterminer la nature des états excités réactifs obtenus suite à l'absorption de la lumière, notamment ceux qui conduisent à des produits différents des réactifs initialement irradiés. La photochimie a donc pour but d'étudier et de comprendre les mécanismes chimiques impliqués après irradiation d'une ou plusieurs molécules. Selon Planck et la théorie quantique, l'absorption d'énergie ne se fait pas de façon continue mais est quantifiée. Ainsi, chaque transition correspond à l'absorption d'un « quantum » d'énergie aussi appelé photon. L'énergie de ce quantum est égale à $E = h\nu$, où h est la constante de Planck et ν la fréquence de la radiation absorbée. L'énergie nécessaire pour former un état excité se situe dans la gamme des longueurs d'onde de l'UV-Vis et elle varie selon le type de molécules étudiées.

1.4.1.2 Les états excités et leurs transitions électroniques

Lorsqu'une molécule absorbe un photon de lumière, elle passe de l'état fondamental à un état excité. Cela correspond à un transfert de densité électronique d'une orbitale vers une nouvelle. Il existe différents types d'états pour une molécule : les plus courants sont les états singulets et les états triplets. Cette dénomination est liée à la multiplicité des raies en spectroscopie. Ainsi, la multiplicité est égale à $2S + 1$ où S correspond au moment résultant de spin. Pour un état singulet, les spins sont dans des sens opposés donc $S = -\frac{1}{2} + \frac{1}{2} = 0$ et la multiplicité est égale à 1. Pour un état triplet, les spins sont dans le même sens donc $S = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} = 1$ et la multiplicité est égale à 3.

La plupart des molécules ont leurs spins appariés dans leur état fondamental et la molécule se trouve donc dans un état singulet. Lors de l'excitation de la molécule, la règle de conservation de spin impose que l'état excité soit également un état singulet. Cependant, cet état excité singulet peut évoluer en un état excité triplet par un croisement inter-système. Cette inversion de spin est rendue possible par le couplage spin-orbite qui peut être important dans les molécules possédant des atomes lourds tels que l'iode ou le brome. La figure ci-dessous montre les différents niveaux électroniques existant ainsi que leur peuplement (Figure 1.11) :

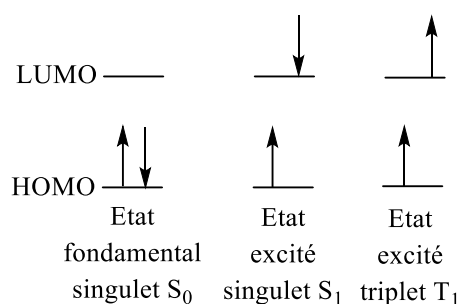


Figure 1.11 : Représentation des états fondamentaux singulet et triplet.

Les transitions électroniques d'un état fondamental vers un état excité obéissent au principe de Franck-Condon.⁷¹ Ce principe stipule que les transitions électroniques étant très rapides comparées aux mouvements nucléaires (environ 10^{-15} s), les niveaux vibrationnels sont favorisés lorsqu'ils correspondent à une modification minimale des coordonnées nucléaires. Il découle ainsi de ce principe que les transitions électroniques entre deux surfaces d'énergie potentielle peuvent être représentées par des verticales reliant ces surfaces (Figure 1.12) :

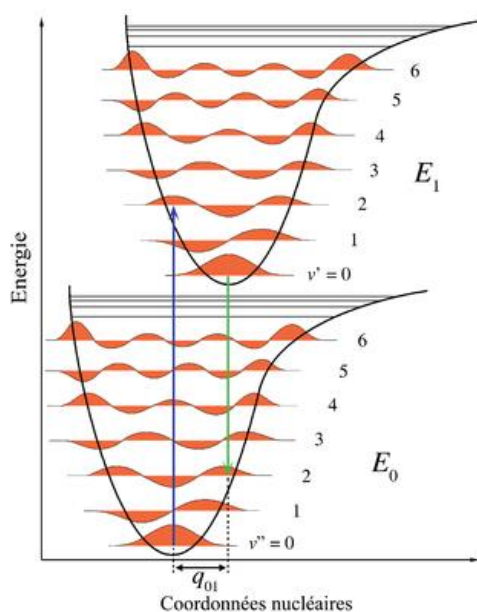


Figure 1.12 : Courbes d'énergie potentielle pour l'état fondamental S_0 et un état excité S_1 selon le principe de Franck-Condon.

De ce fait, la transition électronique verticale intercepte la courbe de potentielle de l'état excité à un niveau qui correspond à une énergie vibrationnelle et rotationnelle supérieure à $v' = 0$, dès que l'état excité ne possède pas une géométrie identique à l'état fondamental. Ce type de transition qui correspond à une excitation à la fois électronique et vibrationnelle est appelée transition vibronique. La configuration de la molécule sur la surface potentielle de l'état excité peut résulter en un déplacement de la position d'équilibre des noyaux présents dans la molécule. Il existe donc des effets d'environnement et de solvants. Dans la Figure 1.12 ci-dessus, ce déplacement de coordonnées nucléaires observé entre l'état fondamental et l'état excité est appelé q_{01} .

1.4.1.3 Processus de désactivation des molécules.

Afin de comprendre les différents processus de désactivation possibles des états excités après absorption d'un photon, le diagramme de Perrin-Jablonski peut être utilisé (Figure 1.13).

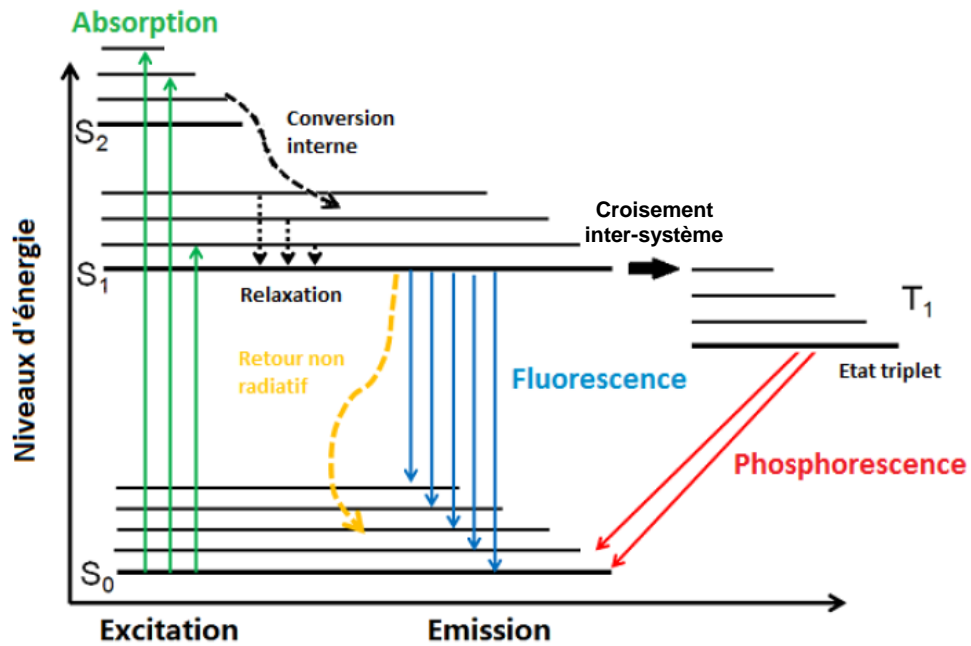


Figure 1.13 : Diagramme de Perrin-Jablonski.⁷²

Dans ce diagramme, il convient de séparer les processus radiatifs des processus non-radiatifs. Les processus radiatifs correspondent à une transition qui est accompagnée de l'absorption ou de l'émission d'un photon : on parle alors de phénomène d'absorption ou de luminescence respectivement. La désactivation radiative peut se faire d'un état singulet vers un autre état singulet : c'est le phénomène de fluorescence. La durée de vie de l'état excité singulet est courte (entre 10^{-9} et 10^{-7} s) et la décroissance de fluorescence est donc rapide. La désactivation radiative peut également se faire entre un état triplet et un état singulet : on parle alors d'un phénomène de phosphorescence. La décroissance de la phosphorescence est cette fois-ci plus longue (entre 10^{-6} et 10^{-3} s). Cela est dû au fait que cette transition est interdite par les règles de conservation de spin.

Les processus radiatifs obéissent généralement à la loi de Kasha, un principe photochimique stipulant qu'après l'absorption d'un photon par une molécule dans l'état fondamental et le peuplement résultant des états excités, l'émission radiative qui s'ensuit (fluorescence ou phosphorescence) se fait depuis l'état excité de plus basse énergie (par exemple, depuis l'état S_1 et non pas depuis l'état S_2).

Les processus non-radiatifs correspondent à des relaxations entre des états énergétiques différents qui ne s'accompagnent pas de l'émission de photons. Par exemple, un état excité S_1 peut retourner à l'état fondamental S_0 par simple dissipation de chaleur. Ce phénomène s'appelle la conversion interne. Elle sera d'autant plus rapide que les niveaux d'énergies des deux états S_1 et S_0 sont proches. Le phénomène peut être décomposé en deux parties : la première étape correspond à une transition non radiative de l'état S_1 vers un niveau vibrationnel de l'état fondamental (entre 10^{-9} et 10^{-8} s) qui est iso-énergétique. La deuxième étape correspond à une relaxation vibrationnelle (entre 10^{-13} et 10^{-12} s) au sein même de l'état fondamental S_0 . Enfin, il peut se produire un processus de croisement inter-système. Il s'agit d'une transition non-radiative entre deux états électroniques de multiplicité différente. Typiquement, ce type de processus décrit le passage d'un état singulet de multiplicité 1 à un état triplet de multiplicité 3. Il y a donc inversion de spin de l'un des électrons non-appariés. En regardant le phénomène plus en détail, il y a d'abord couplage entre un état singulet S_1 vibrationnellement excité et l'état vibrationnel isoénergétique de l'état triplet puis il y a relaxation jusqu'à l'état vibrationnel zéro de l'état triplet. Comme le premier phénomène est interdit par la règle de conservation de spin, il est plus long que celui de la conversion interne (pour une transition S vers T, entre 10^{-10} et 10^{-6} s). Le retour à l'état fondamental singulet est également une transition interdite et la durée de vie de l'état triplet est plus longue que celle d'un état singulet (entre 10^{-5} et 10s). D'après les règles de El-Sayed, le taux de conversion de l'état singulet le plus bas en énergie vers un état triplet lors d'un croisement inter-système peut être élevé si cette transition non-radiative implique un changement de la symétrie de l'orbitale moléculaire.

1.4.1.4 Les transferts d'énergie et les transferts d'électron

Il existe plusieurs processus conduisant à la désexcitation d'une molécule après absorption de lumière. Tout d'abord, comme cela a été présenté dans le paragraphe ci-dessus, elle peut se désactiver par des processus radiatifs (fluorescence et phosphorescence) ou non-radiatifs (conversion interne et croisement inter-système). Il existe d'autres possibilités de désexcitation pour ces molécules. La molécule à l'état excité peut réagir de manière unimoléculaire par des processus d'isomérisation, de réarrangements, ou encore de clivage

de liaisons selon les réactions de Norrish I et II. Il peut également se produire des réactions biomoléculaires telles que des dimérisations, des additions, ou des solvolyses. D'autres réactions bimoléculaires reposent sur deux grands types de processus : les transferts d'énergie et les transferts d'électron que nous allons développer dans cette partie.

Le principe d'un transfert d'énergie est le suivant : le donneur **D** absorbe un photon pour former l'état **D***. Si un accepteur est ajouté au milieu, il peut alors avoir formation de l'état excité de l'accepteur suite à un transfert d'énergie depuis le donneur (Schéma 1.14) :



*Schéma 1.14 : Désactivation d'un donneur **D*** à l'état excité par un accepteur **A** par transfert d'énergie.*

Lors du processus, si on considère la désactivation de **D*** par **A**, on parle alors de « quenching » de **D*** par **A**. Par contre, si on considère l'excitation de **A** par **D***, on parle alors de photosensibilisation. Les transferts d'énergie peuvent avoir lieu quelle que soit la nature ou la multiplicité de **D*** et de **A** à condition que le transfert d'énergie se produise avec conservation de spin. Il est nécessaire que l'énergie de **D*** soit plus élevée que celle de **A*** et que le transfert d'énergie soit plus rapide que la durée de vie de **D***. Après que ce transfert ait eu lieu, le donneur **D*** retournera toujours à l'état fondamental. L'accepteur **A** peut être une molécule à l'état fondamental ou bien déjà excitée. Les transferts d'énergie ont plusieurs utilités : ils permettent d'avoir accès à des niveaux d'énergie excités de **A** non accessibles depuis son état fondamental⁷⁰, d'estimer la distance entre **D*** et **A**⁷⁰, ou encore de générer de la lumière blanche⁷³.

Il existe plusieurs types de transferts d'énergie radiatifs et non-radiatifs en fonction de la proximité entre le donneur et l'accepteur. On s'intéresse ici aux transferts non radiatifs qui impliquent une certaine interaction entre les molécules. Il existe deux types de mécanismes différents : le mécanisme de Förster et le mécanisme de Dexter. Le mécanisme de Förster correspond à un transfert d'énergie non-radiatif résonant (Figure 1.14).⁷⁴ Il résulte d'une interaction dipôle-dipôle longue distance entre le donneur et l'accepteur. Pour que ce type de mécanisme ait lieu, le spectre d'émission du donneur doit recouvrir, du moins en partie, le

spectre d'absorption de l'accepteur (Figure 1.14). Ainsi, ces interactions perturbent les structures électroniques des deux espèces.

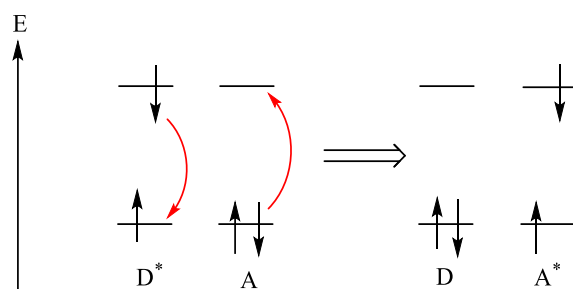


Figure 1.14 : Transfert d'énergie selon le mécanisme de Förster.

Ce type de transfert d'énergie est utilisé pour des applications de « règle moléculaire » afin d'avoir accès aux distances entre D^* et A ⁷⁰ ou encore pour des applications de « balise moléculaire » avec des molécules biologiques⁷⁵. Il est inefficace pour la formation d'un état triplet par transfert d'énergie triplet-triplet.

Le mécanisme de Dexter correspond à un transfert d'énergie par échange d'électron concerté. Cela nécessite que D^* et A soient très proches afin qu'il y ait un recouvrement orbitalaire.⁷⁶ Ainsi, comme l'indique la Figure 1.15, D^* transfère un électron vers la LUMO de A^* et en même temps la HOMO de A transfère un électron vers l'orbitale équivalente de D . Le mécanisme étant concerté, il n'y a pas de formation d'ions. Ce type de transfert d'énergie peut se faire entre deux états triplets. Ainsi, il existe des applications à ces transferts d'énergie triplet-triplet dans la synthèse de molécules⁷⁷ ou la conversion ascendante de photons⁷⁸.

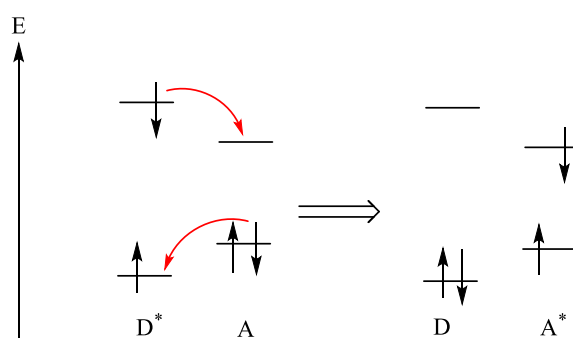


Figure 1.15 : Transfert d'énergie selon le mécanisme de Dexter.

Les transferts d'électron photoinduits reposent également sur des processus bimoléculaires entre une molécule M_1 et une molécule M_2 . M_1 , après absorption de lumière, peuple un état excité M_1^* . Il y a donc un déplacement de densité électronique d'une orbitale occupée vers une orbitale vacante de plus haute énergie. Cela implique que M_1^* est à la fois un meilleur donneur et un meilleur accepteur d'électron. Il existe deux types de transfert d'électron : le transfert oxydant et le transfert réducteur.⁷⁹

Dans le premier cas, M_1^* agit comme un réducteur et transfère un électron à M_2 pauvre en électrons : c'est donc un transfert d'électron oxydant (Figure 1.16).

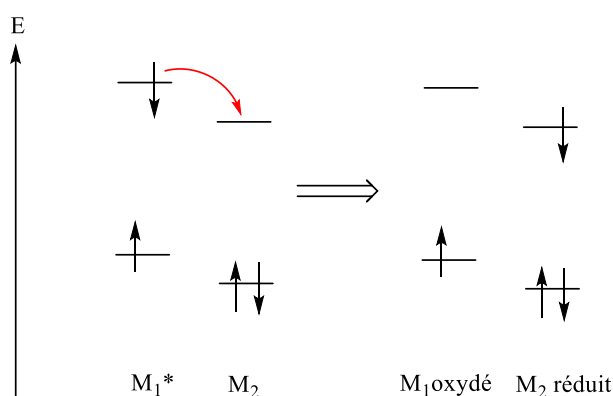


Figure 1.16 : Transfert d'électron de type oxydant avec M_2 pauvre en électrons.

Dans le deuxième cas, M_1^* agit comme un oxydant et reçoit donc un électron provenant de M_2 plus riche en électrons : c'est un transfert d'électron réducteur (Figure 1.17).

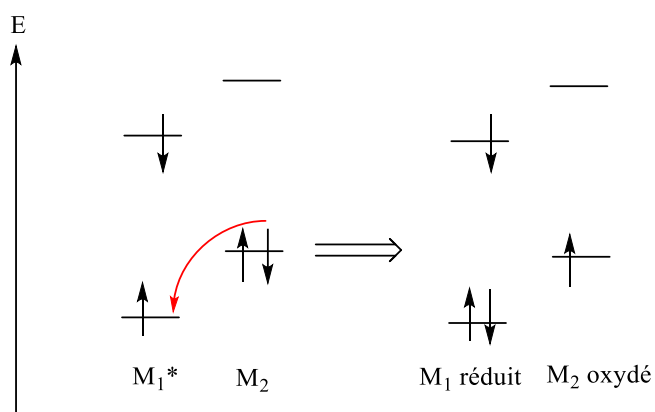


Figure 1.17 : Transfert d'électron de type réducteur avec M_2 riche en électrons.

Le type de transfert qui peut avoir lieu dépend donc de la nature de M_2 et de ses niveaux d'énergie.

1.4.2 La photoréactivité de la riboflavine

La riboflavine appartient à la famille des flavines, qui sont des colorants naturels jaunes dont la structure est basée sur un noyau isoalloxazine. C'est cette partie de la riboflavine qui lui donne ses caractéristiques de photosensibilisateur. La riboflavine absorbe dans le domaine de l'ultraviolet et du visible jusqu'à 500 nm. En solution aqueuse, la riboflavine possède des pics d'absorption à 350 et 445 nm pour les longueurs d'onde supérieures à 300 nm. Elle émet également une fluorescence à 530 nm (Figure 1.18).

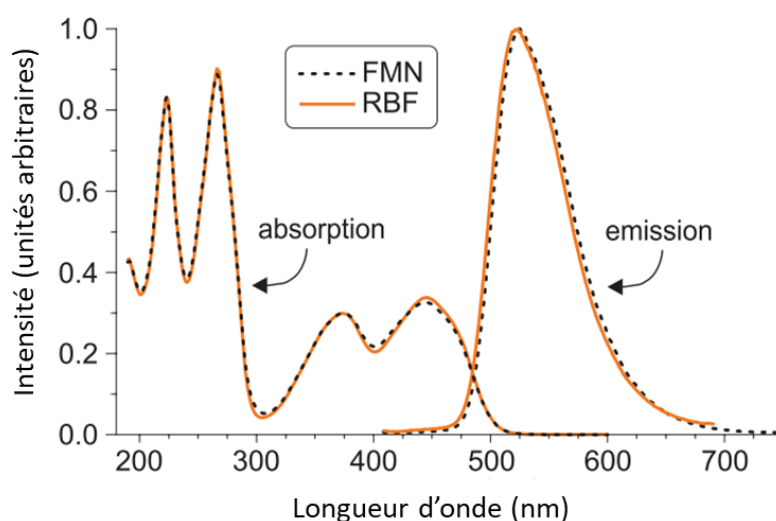


Figure 1.18 : Spectres d'absorption et de fluorescence de la riboflavine (en orange) et de la flavine mononucléotide (traits en pointillés) en fonction de la longueur d'onde.⁸⁰ Reproduit avec permission.

L'absorption de lumière par la riboflavine a été décrite dans de nombreuses études et la riboflavine peut être dégradée en plusieurs photoproduits.⁸¹⁻⁸³ En effet, elle peut se dégrader en lumichrome (LC), en lumiflavine (LF), en carboxyméthylflavine (CMF) ou en 2,3-butanedione.⁸⁴ De plus, en présence d'anions divalents tels que les ions phosphates ou les ions sulfates, la photodégradation de la riboflavine peut également mener à la formation de cyclodéhydroriboflavine (CDRF). Cependant, les produits largement majoritaires sont le lumichrome et la lumiflavine (Figure 1.19).⁸⁵ Les conditions de dégradation de la riboflavine en ses différents photoproduits vont dépendre du solvant utilisé, du pH de la solution et du taux d'oxygène.⁸⁵ Les états excités singulet et triplet sont tous les deux impliqués dans la formation de photoproduits mais ils ne mènent pas aux mêmes espèces.⁸⁵ L'état triplet mène à la formation de LC et de LF alors que l'état singulet mène à la formation de LC et de CDRF.

Cependant, la durée de vie de l'état triplet est beaucoup plus élevée ($\tau = 15 \mu\text{s}$) que celle de l'état singulet ($\tau = 5 \text{ ns}$), ce qui rend l'état triplet beaucoup plus réactif vis-à-vis de réactions bimoléculaires.⁸⁶ La formation de LC et de CDRF depuis l'état excité singulet sera donc très fortement minoritaire.

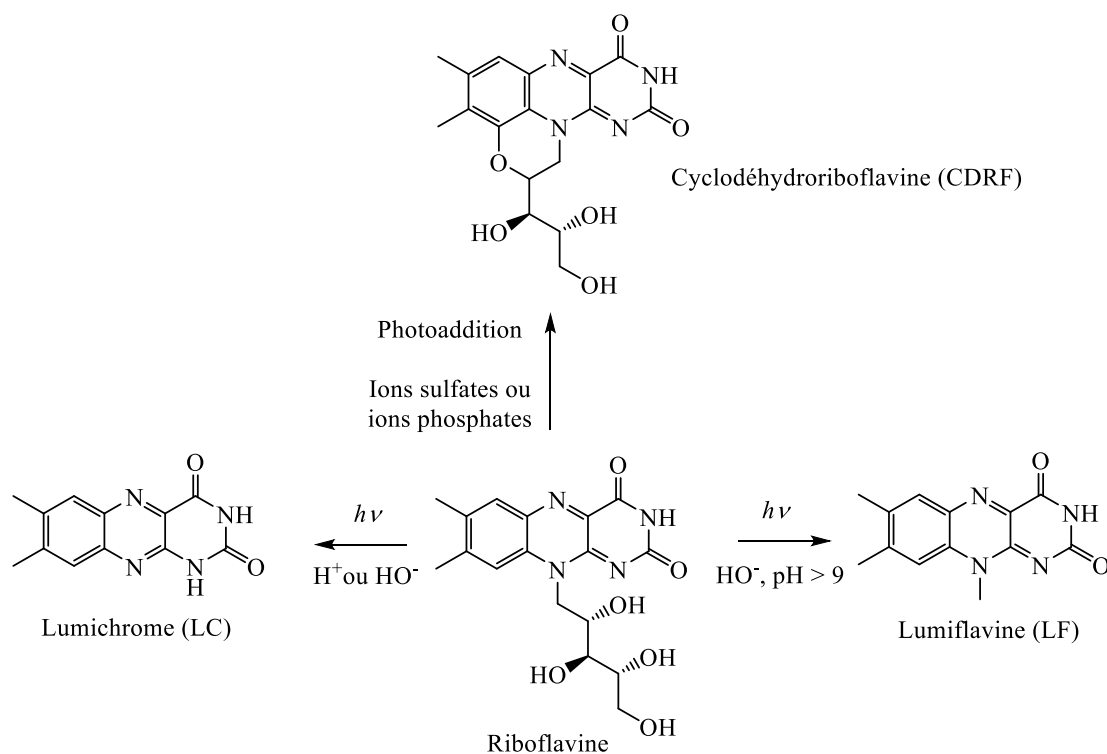


Figure 1.19 : Produits de dégradation de la riboflavine selon le pH ou la présence d'ion divalents.

Pour tous ces produits de dégradation, le noyau isoalloxazine est conservé. Cela signifie que les propriétés photosensibilisantes de la riboflavine sont également conservées dans les photoproduits. Le pH est le facteur déterminant pour la photodégradation de la riboflavine. Comme l'indique la Figure 1.19, les principaux photoproduits formés sont le LC en milieu acide et neutre et le LC et la LF en milieu alcalin. Ils correspondent à la perte de la partie ribose. La riboflavine à l'état fondamental possède deux sites de protonation avec des pKa autour de 0 et 10.⁵⁹ La vitesse de photolyse dépend donc de son état d'ionisation et de sa susceptibilité à passer à un état excité. Ahmad & al. ont publié une étude sur la cinétique de photolyse de la riboflavine en fonction du pH de la solution.⁸⁵ Ils ont montré que la riboflavine était plus stable autour d'un pH de 5-6 du fait de son faible potentiel redox sur cette gamme de pH. De plus, la vitesse de photolyse de la riboflavine augmente lorsque le pH de la solution augmente, pour

atteindre un maximum autour d'un pH de 10. Cette hausse est due à une activité plus forte du triplet de la riboflavine dans la gamme des pH alcalins. Lors de leurs études, Ahmad & al. ont montré que les états excités singulet et triplet de la riboflavine possèdent des pKa autour de 0 et de 10 qui sont semblables à ceux de la riboflavine sous sa forme quinone (oxydée).

Comme d'autres flavines, la riboflavine possède un caractère de photosensibilisateur. Ainsi, après irradiation par une source lumineuse qui émet dans son domaine d'absorption, la riboflavine à l'état fondamental absorbe un photon pour former un état excité singulet (Figure 1.20). Cet état singulet à durée de vie courte ($\tau = 5$ ns) peut alors émettre de la fluorescence avec un rendement quantique de $\phi = 0,27$.⁸⁶ Il peut aussi subir un phénomène de conversion interne par un processus de dissipation d'énergie non radiatif. Cependant, cet état excité singulet évolue principalement en un état excité triplet par un croisement inter-système avec un rendement quantique de $\phi = 0,7$. Cet état triplet possède une durée de vie plus longue ($\tau = 15$ μ s) du fait de la nature interdite du retour à l'état fondamental qui est un état singulet.⁸⁶ L'état triplet peut également oxyder des espèces telles que des acides aminés soufrés (méthionine, cystéine) qui sont présents dans le milieu par transfert d'électron. Le radical cation de l'espèce oxydée et le radical anion de la riboflavine sont alors obtenus. Si de l'oxygène est présent, le radical anion de la riboflavine peut réagir avec lui et mener à la formation d'un ion superoxyde ainsi que d'une molécule de riboflavine oxydée. En l'absence d'oxygène dans le milieu, le radical anion de la riboflavine est protoné, puis une réaction de dismutation a lieu. Une molécule de riboflavine complètement réduite (incolore) et une molécule de riboflavine oxydée sont alors formées. Si de l'oxygène est ajouté au milieu, la riboflavine réduite est à nouveau oxydée et la formation de peroxyde d'hydrogène est observée (Figure 1.20).^{58,86}

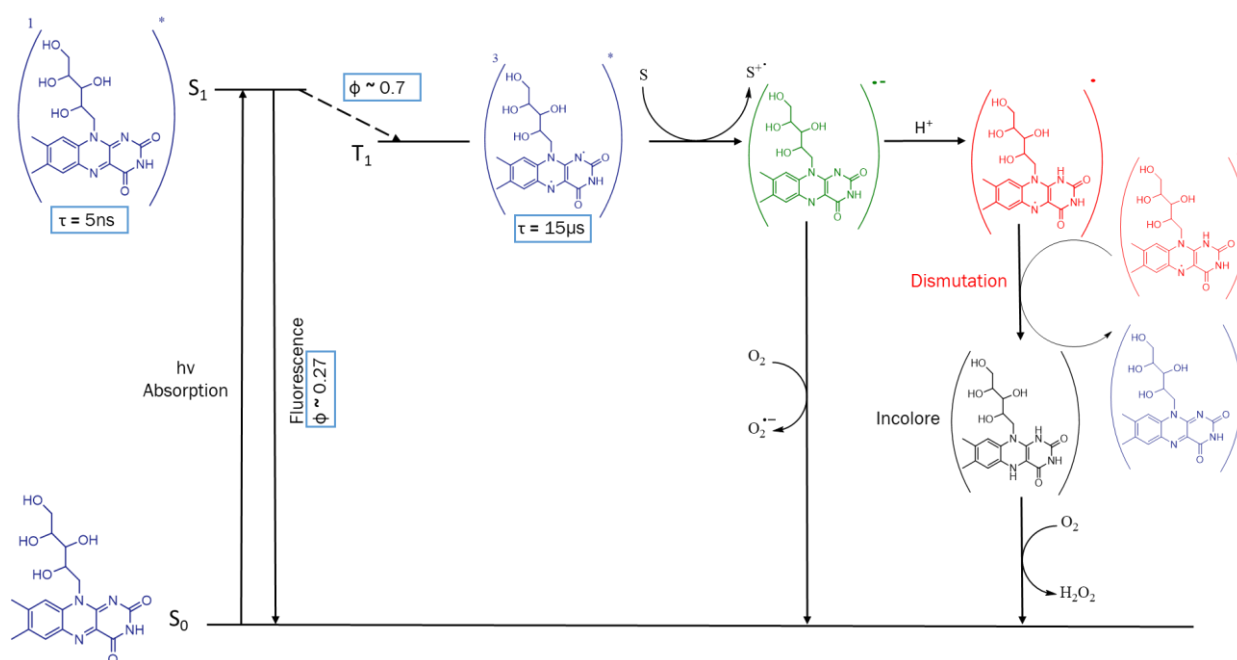


Figure 1.20 : Excitation de la riboflavine après absorption de lumière et réactivité de l'état triplet.

Il est essentiel d'étudier et de comprendre la réactivité de la riboflavine à l'état triplet car c'est cette espèce qui mène à l'oxydation des acides aminés soufrés et donc à l'apparition du goût de lumière dans les vins et les Champagnes. En 2004, Cardoso & al. ont étudié le spectre d'absorption transitoire de la riboflavine à l'état triplet en solution aqueuse à un pH de 6,4 en absence d'oxygène (Figure 1.21).²³ Sur ce spectre, des maximums à 320, 380 et 720 nm sont présents. Il y a également un minima à 445 nm qui correspondrait à l'épuisement de l'état fondamental de la riboflavine. Ainsi, ce spectre permet de suivre la réaction de l'état triplet de la riboflavine avec des molécules telles que des acides aminés ou des peptides.

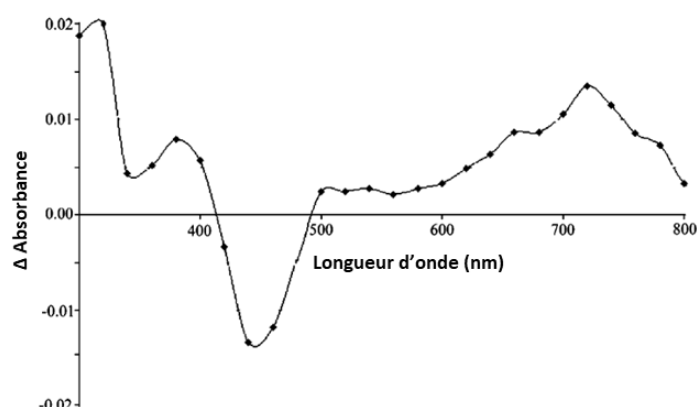


Figure 1.21 : Spectre d'absorption transitoire (état excité moins état fondamental) de la riboflavine à une concentration de $6,7 \times 10^{-7} \text{ M}$ en solution aqueuse désoxygénée à pH = 6,4 en fonction de la longueur d'onde. Spectre enregistré 0,2 μs après une irradiation à 440 nm.²³ Reproduit avec permission.

Les auteurs ont également étudié la cinétique de disparition du signal de l'état triplet de la riboflavine à 720 nm en présence de plusieurs acides aminés et peptides. Ils ont alors montré que la désactivation de l'état triplet de la riboflavine est accélérée en présence de certains acides aminés. Comme le montre la Figure 1.22, la présence de cystéine entraîne le déclin de l'état triplet de la riboflavine. Toujours sur la même figure, on observe que le déclin est proportionnel à la concentration en acide aminé ajouté. Les auteurs montrent le cas de la cystéine dans cet exemple mais ces conclusions sont valables pour les autres acides aminés étudiés.

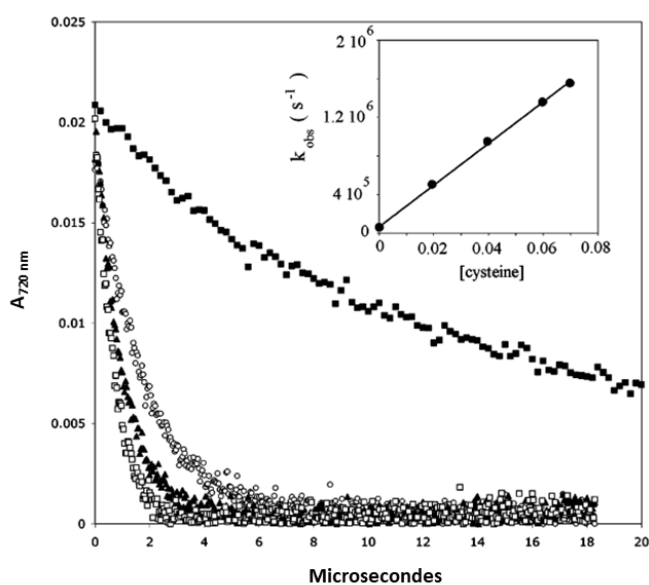


Figure 1.22 : Variation du déclin de l'état triplet de la riboflavine à 720 nm. (courbe du haut) : en absence de cystéine et (autres courbes) : en présence de cystéine à différentes concentrations (mol/L).²³ Reproduit avec permission.

La désactivation de l'état triplet de la riboflavine suit une cinétique de pseudo premier ordre en présence d'acides aminés. Cardoso & al. ont étudié la cinétique de pseudo premier ordre à 720 nm en présence d'acides aminés pour déterminer les constantes de réaction de second ordre de désactivation de la riboflavine. Les résultats obtenus pour plusieurs acides aminés sont présentés dans le Tableau 1.5.

Acides aminés	k_2 (L.mol ⁻¹ .s ⁻¹)
Cystéine	2,16 x 10 ⁷
Tyrosine	1,40 x 10 ⁹
Tryptophane	1,75 x 10 ⁹
Cystine	Pas de réaction
Méthionine	6,36 x 10 ⁷
Histidine	5,22 x 10 ⁷
Phénylalanine	Pas de réaction

Tableau 1.5 : Constantes de vitesse de désactivation de la riboflavine à l'état triplet à 25°C et pH = 6,4.²³

Les auteurs ont montré que la méthionine réagit plus rapidement avec le triplet de la riboflavine qu'avec celui de la cystéine. Cependant, ces valeurs sont assez faibles si on les compare à la constante de vitesse de désactivation du triplet de la riboflavine avec l'oxygène ($k_2 = 9,8 \times 10^8 \text{ L.mol}^{-1}.\text{s}^{-1}$)²⁸ ou aux constantes de vitesse avec le tryptophane et la tyrosine.

Lorsque la riboflavine à l'état fondamental absorbe un photon, elle est excitée vers un état singulet et la plupart de cet état est transformé en un état triplet par un croisement inter-système. Cet état triplet peut déclencher des réactions de photooxydation à travers deux mécanismes bien distincts, comme cela a été montré dans la partie 1.2.2.

Tout d'abord, le mécanisme de « type I » correspond à un transfert d'électron entre la riboflavine et un substrat S. Dans un premier temps, la riboflavine à l'état fondamental absorbe un photon pour former un état excité triplet. Ensuite, le substrat est oxydé par la riboflavine par transfert d'électron pour former le radical cation du substrat et le radical anion de la riboflavine (Schéma 1.15). Ce type de mécanisme est favorisé dans des milieux pauvres en oxygène. Comme l'indique la Figure 1.20, la riboflavine reste à l'état réduit en absence d'oxygène ce qui mène à une perte de la couleur jaune de la solution. La riboflavine oxydée peut être reformée si de l'oxygène est ajouté au milieu.²⁸

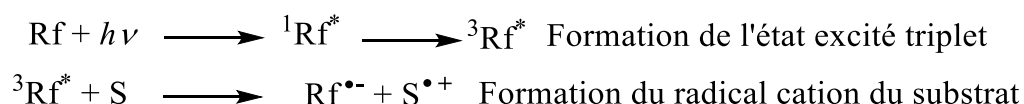


Schéma 1.15 : Mécanisme de type I de photooxydation d'un substrat.

Ensuite, le mécanisme de « type II » est un processus qui permet de former l'oxygène singulet par transfert d'énergie. Dans ce mécanisme, l'état excité triplet de la riboflavine réagit avec l'oxygène fondamental à l'état triplet pour former une molécule de riboflavine oxydée et une molécule d'oxygène singulet. En présence d'un substrat dans le milieu, ce dernier est oxydé par l'oxygène singulet pour former un hydroperoxyde (Schéma 1.16). L'hydroperoxyde est ensuite dégradé en divers sous-produits. Un exemple de mécanisme de type II a été donné plus tôt dans ce rapport : la dégradation des acides gras insaturés dans le lait (Schéma 1.7).²⁸

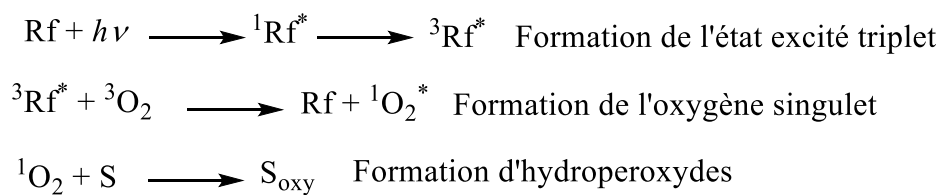


Schéma 1.16 : Mécanisme de type II de photooxydation d'un substrat.

La compétition entre le mécanisme de type I et le mécanisme de type II dépend des réactifs, de la nature du photosensibilisateur et des conditions de la réaction.

1.5 Les moyens de protection des vins et des Champagnes

1.5.1 Les contraintes industrielles et la sensibilisation du consommateur

Afin de protéger les vins et les Champagnes, plusieurs types de protection sont utilisables : les protections physiques et l'amélioration de la stabilité du produit. Cependant, il est aussi possible de minimiser l'apparition du goût de lumière en identifiant les zones à risque pour le produit, de sa conception jusqu'à sa consommation. Théoriquement, le Champagne est à risque dès la première fermentation puisqu'il développe de la riboflavine et des acides aminés soufrés lors de cette étape de vinification. Le produit devient encore plus sensible lors de l'étape de la deuxième fermentation puisque la concentration en acides aminés soufrés et en riboflavine augmente.⁴⁴ La lumière peut donc entraîner la formation du goût de lumière dans le Champagne sur son lieu de fabrication. Cette problématique est bien connue des maisons de Champagne et des mesures préventives sont prises en amont de la commercialisation. En effet, la lumière du jour ou l'éclairage par néons sont évités et des

éclairages avec des diodes électroluminescentes (DEL) pour lesquelles la longueur d'onde d'émission peut être choisie sont utilisés.⁸⁷ En effet, ce sont les longueurs d'ondes comprises entre 300 et 500 nm qui sont absorbées par la riboflavine et il faut donc éviter ce type de lumière. Les caves s'équipent donc de lampes orange (500-600 nm) qui correspondent à des longueurs d'onde pour lesquelles la riboflavine n'absorbe pas la lumière. Lorsque le produit est prêt à être commercialisé, celui-ci passe par différentes plateformes logistiques avant d'être acheminé chez chaque revendeur. Cette étape est aussi sensible car il faut protéger le produit de la lumière du jour. Pour ces raisons, la plupart des bouteilles de Champagne sont mises dans des cartons de protection pendant leur transport. Une fois arrivées chez un revendeur, il faut également qu'il les conserve à l'abri de la lumière, ce qui n'est pas toujours le cas. Enfin, la bouteille doit également être stockée dans un endroit à l'abri de la lumière chez le consommateur. Les étapes de transit des bouteilles de Champagnes sont donc nombreuses et les personnels de la grande distribution ou les consommateurs ne sont parfois pas sensibilisés au goût de lumière. Il y a donc une véritable nécessité de protéger le produit, même après sa fabrication, par des méthodes physiques ou en améliorant la stabilité du produit.

1.5.2 Les moyens de protection physiques

Les protections physiques n'interagissent pas avec les constituants du Champagne et ont pour but de protéger le produit de la lumière. Elles doivent satisfaire à quatre principales caractéristiques : posséder des propriétés filtrantes efficaces pour les longueurs d'onde responsables de l'apparition du goût de lumière (300-500 nm), être économiques et pouvoir être mises en œuvre industriellement sans surcoût excessif, être esthétiques et enfin respecter les réglementations sur l'environnement et la sécurité alimentaire pour être aux normes QSE.⁸⁸ Plusieurs types de protection physique correspondant à ces critères peuvent être utilisés. Tout d'abord, il est possible d'agir sur le type de verre de la bouteille. Le premier critère à prendre en compte est la protection du verre sur la gamme de longueur d'onde qui mène au goût de lumière (300-500nm). Ainsi, le verre choisi doit transmettre la lumière le moins possible dans cette région.

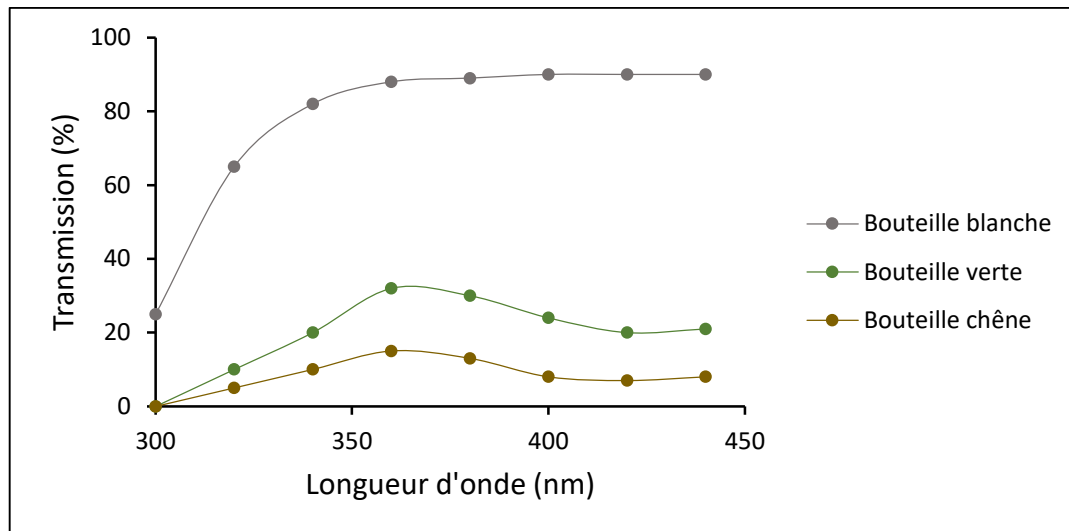


Figure 1.23 : Transmission de la lumière en fonction du type de verre utilisé : bouteille blanche, bouteille verte et bouteille chêne.⁸⁹

La Figure 1.23 montre que la couleur chêne est celle qui protège le mieux le produit des longueurs d'onde en dessous de 500 nm avec un pourcentage de transmission inférieur à 15%. Ce type de verre n'est cependant pas le plus esthétique. L'utilisation de verre transparent ne permet pas de protéger le produit des longueurs d'onde supérieures à 300 nm. Le verre de couleur verte, bien que plus efficace que le verre blanc, ne permet pas de filtrer toute la lumière et une transmission supérieure à 30% autour de 360 nm est obtenue. Cependant, il existe des verres de couleur verte améliorés (« verre Champagne ») qui ont un faible pourcentage de transmission de la lumière à 400 nm.⁹⁰

Arapitsas & al. ont récemment étudié l'influence de la couleur de la bouteille sur l'apparition du goût de lumière en conditions réelles.⁹¹ Les auteurs ont reproduit les conditions de conservation des vins dans un supermarché et ils ont montré que tous les vins stockés en bouteille transparente développent un goût de lumière quatre semaines après le début de l'expérience. Au contraire, le vin en bouteille verte présente un goût de lumière plus modéré, voire inexistant. Dans tous les cas, le vin est naturellement protégé pour les longueurs d'onde inférieures à 300 nm car n'importe quel verre bloque ces rayons.⁹² Une autre façon de protéger les vins et les Champagnes de la lumière est l'utilisation de contenants opaques, comme pour le lait. Ainsi, il est possible de stocker les vins dans des récipients en aluminium ou dans des emballages à base de PET colorés. Ce type de contenant, en plus de bloquer les rayons lumineux, permet d'avoir une herméticité vis-à-vis de l'oxygène et de

conserver le vin pendant plus longtemps. En effet, l'oxydation du vin peut entraîner des défauts organoleptiques. Ce type de packaging est utilisé pour certains vins sous la forme de « bags-in-box® » (Figure 1.24).



Figure 1.24 : Contenants de type "bag-in-box®" complètement opaques à la lumière.

Cependant, cette technologie ne peut pas être utilisée pour le Champagne car la réglementation de l'AOC Champagne l'interdit.⁸⁸ De plus, il y aurait des problèmes liés à la pression exercée par le CO₂ (entre 6 et 8 bars) et l'utilisation de ce type d'emballages souffre d'une mauvaise image vis-à-vis du consommateur. Afin de rendre la bouteille de Champagne plus opaque et moins sensible à la lumière, l'utilisation de sleeves est également possible. Il s'agit d'un habillage de la bouteille qui permet de lui donner une certaine esthétique et d'épouser sa forme (Figure 1.25).



Figure 1.25 : Bouteilles de Champagne de différentes marques entourées d'un « sleeve » afin de les protéger de la lumière et de leur donner une certaine esthétique.⁹³

Enfin, il est possible d'utiliser des coffrets de protection afin de préserver les bouteilles de Champagne de la lumière (Figure 1.26).



Figure 1.26 : Coffret de protection d'une bouteille de Champagne qui permet de protéger le produit de la lumière.

C'est actuellement la méthode la plus utilisée et la plus efficace afin de protéger le Champagne en bouteille blanche qui est à risque. En effet, ce type d'emballage permet de bloquer totalement les rayons lumineux.

1.5.3 Diminution de la sensibilité des vins

Des méthodes permettant d'améliorer la stabilité du produit ont été étudiées afin de minimiser la formation du goût de lumière dans les vins et les Champagnes. Pour cela, la composition du Champagne est modifiée en ajoutant ou en enlevant certains constituants. Cependant, il est important de conserver les qualités organoleptiques du produit. Une étude menée par Descoins & al. montre que la teneur en sucre du Champagne a un effet sur la cinétique de dégradation de la riboflavine.⁸⁹ En effet, en ajoutant une grande quantité de sucre (50 g/L), la dégradation de la riboflavine au cours du temps est plus lente. Cependant, en modifiant fortement la concentration du sucre dans le Champagne, son profil sensoriel est altéré. Par exemple, il n'est pas souhaitable d'ajouter une telle quantité de sucre à un Champagne brut. En effet, il changerait de catégorie et serait classé dans la catégorie des Champagnes doux ou demi-sec qui n'ont pas les mêmes caractéristiques organoleptiques.

Le sulfate de cuivre est parfois ajouté dans les vins pour diminuer la formation des composés soufrés volatils pendant la fermentation. Selon certaines études, l'augmentation de la prévalence du goût de lumière dans les vins est due à l'abandon du cuivre dans les tuyauteries des caves.⁴⁰ En effet, l'inox s'est largement imposé et a donc diminué la concentration en cuivre dans les vins. Cependant, la concentration en cuivre dans les vins est limitée par des normes et un excès de cuivre peut entraîner l'apparition d'un phénomène de « casse cuivreuse ». La casse cuivreuse correspond à la formation d'un précipité de sulfure de cuivre (issu de la réaction entre le cuivre (II) et le SO_2) qui entraîne un trouble dans le vin après complexation avec des protéines.⁹⁴ Les normes peuvent varier mais l'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin autorise une concentration en cuivre de 1 mg/L au maximum.⁹⁵

L'utilisation de tanins peut également permettre de minimiser la formation du goût de lumière. Les tanins catéchiques, aussi appelés tanins condensés, sont des substances végétales de la famille des polyphénols présents dans les pépins de raisin. Ils sont

hydrosolubles et ils ont la capacité de précipiter les protéines, les alcaloïdes et les polysaccharides.⁹⁶ En 1983, Maujean & al. ont déterminé qu'une dose de l'ordre de 40 mg/L permet de limiter l'apparition du goût de lumière.⁴⁹ Plus récemment, Fracassetti & al. ont montré que l'utilisation de tanins galliques, aussi appelés tanins hydrolysables, permet de nettement diminuer les concentrations en espèces soufrées volatiles formées dans des solutions modèles de vin.⁶³ Ces tanins sont couramment utilisés dans l'industrie viticole pour améliorer la stabilité du vin et ses caractéristiques sensorielles.^{42,97} Ils peuvent réagir à la fois avec l'oxygène singulet⁹⁸ et le triplet de la riboflavine.⁶³ Les tanins galliques entrent donc en compétition avec la méthionine.

Enfin, l'acide ascorbique peut être utilisé afin de protéger les vins de l'apparition du goût de lumière. Ce composé est naturellement présent dans les vins à hauteur de 50-100 mg/L et il peut également être ajouté en tant qu'additif.⁹⁹ Il est normalement utilisé pour protéger les vins de l'oxydation. La teneur maximale en acide ascorbique autorisée dans les vins est de 300 mg/L.⁹⁵ Une étude menée sur le lait de soja a montré que l'ajout de vitamine C au produit permet de le protéger vis-à-vis de la lumière.⁸¹ De plus, des études ont également montré que le triplet de la riboflavine peut réagir avec l'acide ascorbique par transfert d'électron photoinduit.^{39,100} Les acides aminés soufrés sont alors en compétition avec l'acide ascorbique pour réagir avec le triplet de la riboflavine ce qui a pour effet de diminuer le risque de formation du goût de lumière.

1.6 Conclusions du chapitre 1 et objectifs de la thèse

Le goût de lumière est un phénomène complexe qui entraîne la formation de composés soufrés volatils indésirables dans de nombreux produits alimentaires. Le phénomène est globalement bien compris et maîtrisé dans les filières brassicoles et laitières mais il reste une problématique d'actualité dans la filière viticole. En effet, l'utilisation de verres transparents ainsi que le développement de la commercialisation des vins en grande surface a entraîné une recrudescence du goût de lumière dans les vins. Le Champagne est encore plus à risque car il possède des teneurs en riboflavine et en acides aminés soufrés plus

importantes que les vins classiques. La très faible teneur en oxygène dans les Champagnes rend également le triplet de la riboflavine très réactif vis-à-vis de la méthionine ce qui a pour effet d'augmenter le risque de développement d'un goût de lumière.

Le premier objectif de cette thèse est de comprendre le processus d'apparition du goût de lumière dans les vins blancs et les Champagnes. En effet, la complexité de la matrice rend son étude compliquée. Des méthodes analytiques et des protocoles d'irradiation de solutions modèles de vin sont présentés afin de mettre en évidence les principaux intermédiaires réactionnels qui entrent en jeu dans la formation des espèces soufrées volatiles. Cela permet de proposer un mécanisme de formation du goût de lumière. De plus, des études sur les paramètres pouvant influencer la formation du goût de lumière tels que l'oxygène, le pH de la solution ou la longueur d'onde d'irradiation sont détaillées. Des composés présents dans le Champagne tels que les sulfites ou les sucres sont également ajoutés aux solutions modèles afin d'étudier leur impact sur la formation du goût de lumière.

Le deuxième objectif correspond à l'étude de la protection des vins blancs et des Champagnes face à l'apparition du goût de lumière. En effet, bien que l'utilisation de protections physiques permette de protéger le produit, il n'existe à ce jour pas de méthodes efficaces permettant d'améliorer la stabilité du produit et qui n'affectent pas les propriétés organoleptiques des vins et des Champagnes. Un système de coordination basé sur des interactions entre la méthionine (principal acide aminé responsable de l'apparition du goût de lumière dans les vins et les Champagnes) et des porphyrines est présenté. Ces composés permettent de complexer la méthionine ce qui l'empêche d'être oxydée par le triplet de la riboflavine. La polymérisation de porphyrines ayant ces caractéristiques permet d'obtenir une résine poreuse pouvant complexer la méthionine et ainsi diminuer la concentration en espèces soufrées volatiles formées après exposition du produit à la lumière.

Enfin, le troisième objectif de cette thèse est d'étudier le mécanisme de formation du goût de lumière dans des solutions authentiques de Champagne et d'évaluer l'efficacité du système de protection dans cette matrice. Pour cela, des simulateurs solaires sont utilisés afin d'irradier les échantillons de Champagne et les résultats sont présentés dans le chapitre 5.

Chapitre 2 : Etudes mécanistiques de la formation du goût de lumière

2.1 Introduction

Ce chapitre décrit le mécanisme de formation du goût de lumière dans des solutions modèles de vin. La formation d'espèces soufrées volatiles dans des vins synthétiques contenant de la riboflavine et de la méthionine a été mise en évidence pour la première fois par Maujean & al.⁴⁹ Afin de mieux comprendre les processus impliqués, des études photochimiques de dégradation de la riboflavine en présence de méthionine ont été réalisées. Pour cela, il a été nécessaire de développer des protocoles d'irradiation reproductibles ainsi qu'une méthode analytique fiable pour la détection des espèces formées. Les composés impliqués dans la formation du goût de lumière sont le méthaneéthiol, le DMDS et le DMTS et ces molécules ont des seuils de perception bas (entre 0,3 et 25 µg/L).^{53,101} De nombreux paramètres sont à prendre en compte lors de l'étude de la formation du goût de lumière. En effet, la quantité d'oxygène, le pH de la solution, la concentration en riboflavine ou encore la concentration en méthionine sont susceptibles d'avoir une influence sur les rendements quantiques des espèces soufrées formées.^{63,85}

Pour les expériences présentées dans ce chapitre, nous avons choisi de travailler avec des solutions modèles préparées selon un protocole décrit dans la littérature : un mélange eau / éthanol (88% / 12%) à pH = 3,5 en présence d'acide tartrique.¹⁰² En utilisant des solutions modèles, il est possible de simplifier la matrice complexe du vin qui contient plusieurs centaines de composés. Ainsi, les résultats présentés dans les chapitres 2 et 3 ont été obtenus en utilisant des solutions modèles contenant de la méthionine et de la riboflavine. Pour analyser les composés soufrés volatils formés lors de l'exposition à la lumière des solutions modèles, il est nécessaire de développer une méthode d'analyse. La méthode généralement utilisée pour l'analyse de ces composés est la SPME-GC-PFPD.^{53,103} La SPME (Solid Phase Micro Extraction) est une technique d'extraction permettant l'adsorption de composés organiques présents dans un échantillon sur une fibre en polymère. Les espèces chimiques adsorbées peuvent ensuite être analysées par chromatographie sans injecter de solvant. Le PFPD (Pulsed Flame Photometric Detector) est un détecteur spécifique des éléments chimiques dont la chimioluminescence est longue (phosphore, azote, soufre) et il est associé à une chromatographie en phase gazeuse (GC). La plupart des irradiations présentées dans ce

chapitre ont été faites avec un banc optique composé d'une lampe xénon-mercure, d'un monochromateur et d'un porte-échantillon. Cet appareillage permet d'irradier des échantillons à des longueurs d'onde monochromatiques.

2.2 Mesures de rendements quantiques et systèmes d'irradiation

2.2.1 Systèmes d'irradiation

Pour réaliser des études photochimiques sur la dégradation de la méthionine en présence de riboflavine et de lumière, il est utile de mesurer les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles formées. Pour cela, il est nécessaire d'utiliser un système d'irradiation qui permette de sélectionner la longueur d'onde de la lumière incidente à partir d'une lampe possédant un spectre d'émission étendu. Il existe de nombreux dispositifs d'irradiation : le banc optique, le réacteur Rayonet, les DEL ou encore les lampes UV.

Pour cette étude, nous avons choisi d'utiliser un banc optique constitué d'un monochromateur, d'une lampe xénon-mercure d'une puissance de 200 W et d'un porte-échantillon équipé d'un agitateur magnétique. Un monochromateur est un appareil qui permet de sélectionner une gamme de longueurs d'onde étroite à partir d'un faisceau comprenant une large gamme de longueurs d'onde. Il est possible de régler la fente du monochromateur afin d'ajuster l'intensité lumineuse et la bande spectrale arrivant sur le porte échantillon. La lampe xénon-mercure utilisée possède des bandes d'émission intenses à 366 nm, 405 nm et 436 nm (Figure 2.1). Les maximums d'absorbance de la riboflavine étant compris entre 300 et 500 nm, cette lampe est donc adéquate pour réaliser les études photochimiques présentées dans ce chapitre.

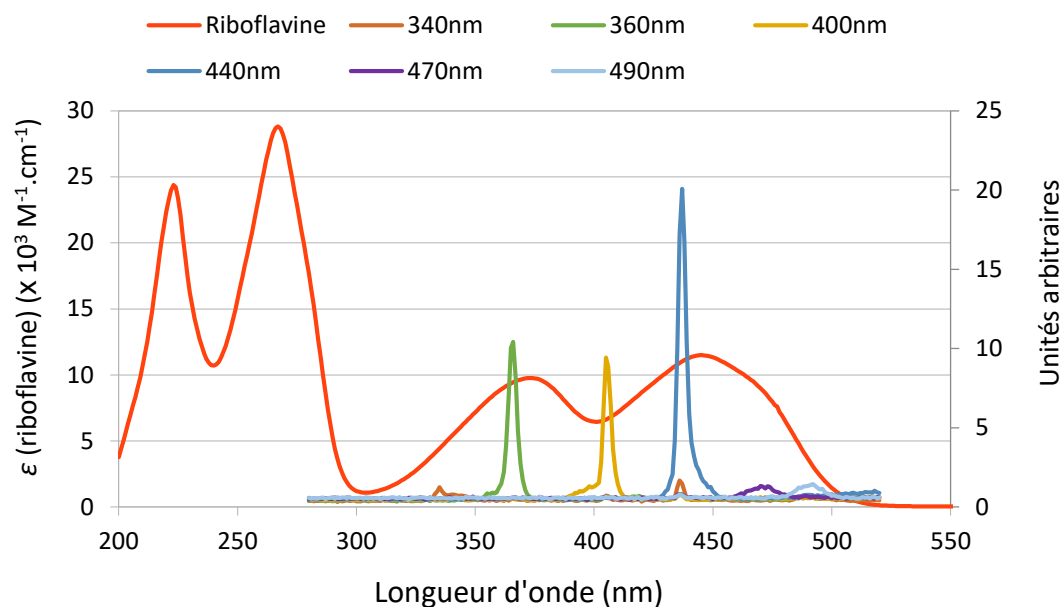


Figure 2.1 : Spectre d'absorbance de la riboflavine à 0,1 mM dans l'eau (axe des ordonnées à gauche) et spectre d'émission de la lampe xénon-mercure en unités arbitraires (axe des ordonnées à droite) en fonction de la longueur d'onde (nm).

Pour certaines expériences, des sources DEL ont été utilisées au lieu du banc optique. En effet, les DEL sont des sources monochromatiques ou polychromatiques puissantes et elles permettent d'obtenir un taux de conversion des précurseurs soufrés en espèces soufrées volatiles rapide. Les DEL ont été obtenues chez Roithner LaserTechnik GmbH® et ont été implantées sur un système d'éclairage au sein du laboratoire.

2.2.2 Principe de l'actinométrie

La mesure d'un rendement quantique nécessite de connaître la valeur du flux photonique absorbé et donc le nombre de photons reçus par l'échantillon. Les actinomètres sont généralement utilisés pour mesurer le flux photonique. Il existe deux procédés, l'actinométrie chimique et l'actinométrie physique. Le principe de l'actinométrie chimique est le suivant : en irradiant une solution contenant des composés photosensibles et dont le rendement quantique de réaction est connu, il est possible de calculer le nombre de photons reçus par un échantillon.¹⁰⁴ Le choix d'un actinomètre se fait en fonction de la gamme de longueurs d'onde que l'on souhaite étudier. La plupart des actinomètres sont actifs dans l'UV et dans le visible jusqu'à 500 nm. Le Tableau 2.1 ci-dessous présente une liste non-exhaustive d'actinomètres chimiques usuels en photochimie.

Actinomètre	Domaine de longueur d'onde d'excitation (nm)	Rendement quantique ϕ (λ)
Sulfate d'uranyle	250 - 450	1,30
Oxalate d'uranyle	254 - 436	0,58 (366 nm)
Ferrioxalate de potassium	250 - 436	1,24 (313 nm)
<i>o</i> -Nitrobenzaldéhyde	300 - 410	0,50
Acide chloroacétique	< 270	0,31 (254 nm)
Azobenzène	230 - 460	$\phi_{\text{cis-trans}} = 0,4 - 0,5$ $\phi_{\text{trans-cis}} = 0,1 - 0,2$

Tableau 2.1 : Rendements quantiques de quelques actinomètres usuels ainsi que leur domaine de longueur d'onde d'utilisation.¹⁰⁴

L'actinomètre de Parker, basé sur la décomposition du ferrioxalate de potassium, a été utilisé pour mesurer le flux photonique incident lors de certaines irradiations présentées dans ce chapitre. Cet actinomètre est linéaire sur une plage de longueur d'onde comprise entre 300 et 500 nm. La mesure du flux photonique est réalisée de la manière suivante : une solution acide de ferrioxalate de potassium à 6 mM dans l'acide sulfurique à 0,05 M est irradiée pour former des ions fer (II) (Schéma 2.1). La formation des ions fer (II) se fait en deux temps selon les équations (1) et (2) et le bilan global de la réaction est présenté dans l'équation (3).

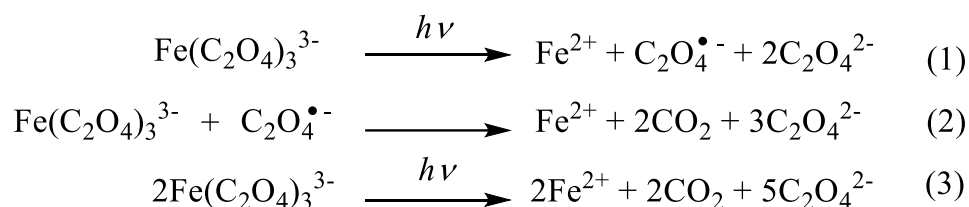


Schéma 2.1 : Décomposition du ferrioxalate de potassium en ions fer (II) suite à l'absorption de photons.

Les ions fer (II) sont ensuite complexés par une solution acide de 1,10-phénanthroline à 5,5 mM dans l'acide sulfurique à 0,5 M pour former le complexe ferroïne (Schéma 2.2). Le complexe formé est alors dosé par spectroscopie UV-visible à 510 nm ($\epsilon = 11100 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) en mesurant la différence d'absorbance entre l'échantillon irradié et un échantillon non irradié.¹⁰⁵

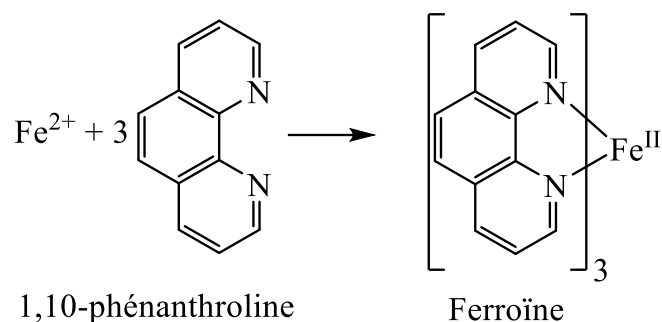


Schéma 2.2 : Formation du complexe ferroïne.

En utilisant l'Equation 2.1, il est possible de calculer le nombre de photons reçus par l'échantillon par seconde :

$$I = \frac{V \times \Delta A(510nm)}{1000 \times L \times \varepsilon(510nm) \times \Phi \times t \times F} \times Na$$

Équation 2.1 : Calcul de l'intensité lumineuse par actinométrie.

I est le nombre de photons par seconde

V est le volume total après complexation (mL)

ΔA est la différence d'absorption entre la solution irradiée et la solution non irradiée

L est le trajet optique (cm)

ε est le coefficient d'absorption molaire du complexe ferroïne à 510 nm (11100 L.mol⁻¹.cm⁻¹)

Φ est le rendement quantique de production d'ion ferreux pour un λ donné

t est le temps d'irradiation (s)

F est le facteur de correction de la lumière absorbée $F = 1-10^{-A}$ où A est l'absorbance du ferrioxalate à la longueur d'onde d'irradiation.

Na est le nombre d'Avogadro

Les actinomètres chimiques, bien que fiables, possèdent certains désavantages. En effet, les actinomètres chimiques ayant une réponse dans la gamme du visible ne sont pas nombreux. L'actinomètre de Parker, par exemple, est utilisable jusqu'à 500 nm maximum. De plus, les solutions sont très sensibles à la lumière et il est donc indispensable de bien les protéger lors de leur stockage et manipulation.

2.2.3 Utilisation d'un actinomètre physique

Afin de remplacer l'actinométrie chimique, un autre système de mesure de l'intensité lumineuse peut être utilisé : le puissancemètre. Cet appareil mesure la valeur du flux énergétique qui correspond à la puissance totale du rayonnement électromagnétique incident. Connaissant la valeur de la longueur d'onde d'irradiation, il est possible de déterminer la valeur du flux énergétique à l'aide de l'équation de Planck ($E = hc/\lambda$).¹⁰⁶ Le puissancemètre permet donc de calculer le flux photonique incident d'une source lumineuse rapidement et pour n'importe quelle longueur d'onde (Equation 2.2). Cependant, il convient de noter que cette approche est difficilement applicable pour les sources non-monochromatiques.

$$I = \frac{Fe \times \lambda}{h \times c}$$

Équation 2.2 : Calcul du flux photonique émis par une source lumineuse monochromatique à partir du flux énergétique.

I est le nombre de photons par seconde

Fe est le flux énergétique ($J.s^{-1}$)

λ est la longueur d'onde d'irradiation (m)

h est la constante de Planck ($J.s^{-1}$)

c est la célérité de la lumière dans le vide ($m.s^{-1}$)

Afin de déterminer si les valeurs d'intensité lumineuse obtenues en utilisant le puissancemètre sont proches de celles obtenues en utilisant l'actinomètre de Parker, une étude comparative a été faite en utilisant les deux méthodes. Il est important de préciser que l'actinomètre de Parker est linéaire sur la plage de longueurs d'onde comprise entre 300 et 500 nm.¹⁰⁵ Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 2.2 ci-dessous.

λ (nm)	$\Delta A_{\text{ferrioxalate}}$ (510 nm)	Temps _{ferrioxalate} (s)	$I_{\text{ferrioxalate}}$ ($\times 10^{15}$ photons/s)	$F_{\text{puissancemètre}}$ (mW)	$I_{\text{puissancemètre}}$ ($\times 10^{15}$ photons/s)	Taux de variation (%)
365	0,194	18	2,14	1,22	2,24	4,6
365	0,216	18	2,27	1,28	2,35	3,5
365	0,220	17	2,45	1,34	2,46	0,4

Tableau 2.2 : Comparaison des valeurs d'intensité lumineuse obtenues avec l'actinomètre de Parker et avec un puissancemètre.

En utilisant l'actinométrie chimique, il y a une perte de lumière de l'ordre de 2,5% par face de quartz de la cuve irradiée. En soustrayant ces 5% aux valeurs des taux de variation présentées dans le Tableau 2.2 ci-dessus, des intensités lumineuses très proches sont alors obtenues (moins de 5% de différence). Cela signifie que le puissancemètre et l'actinométrie chimique donnent des valeurs très similaires pour l'intensité de la source lumineuse. Pour la plupart des études présentées dans ce chapitre, un puissancemètre a donc été utilisé à la place de l'actinométrie chimique afin d'avoir accès à la valeur du flux photonique incident.

2.2.4 Calcul des rendements quantiques

L'étude des mécanismes de formation des espèces soufrées volatiles bénéficie de la détermination des rendements quantiques des différents processus. Le rendement quantique est défini comme étant le nombre de processus par seconde divisé par le nombre de photons absorbés par seconde (Equation 2.3). Dans le cas d'une réaction photochimique, cela donne :

$$\Phi = \frac{\text{nombre de molécules de produit formées par seconde}}{\text{nombre de photons absorbés par seconde}}$$

Équation 2.3 : Définition du rendement quantique.

Le nombre de photons absorbés par seconde est déterminé en utilisant le puissancemètre ou l'actinométrie chimique, en considérant que tous les photons incidents sont absorbés. Afin de calculer le nombre de molécules de produits formées par seconde, il faut déterminer les concentrations en produits soufrés volatiles formés après irradiation. Pour cela, une courbe d'étalonnage doit être obtenue pour chaque composé d'intérêt. La concentration de l'espèce soufrée volatile étant déterminée à partir de la droite d'étalonnage,

il est possible de calculer le nombre de molécules de produit formées par seconde en utilisant l'équation ci-dessous (Equation 2.4).

$$Np = \frac{C \times Na \times V}{t}$$

Équation 2.4 : Calcul du nombre de molécules de produit formées par seconde.

Np est le nombre de molécules de produit formées par seconde

C est la concentration du produit après irradiation (M)

Na est le nombre d'Avogadro (mol^{-1})

V est le volume de solution irradié (L)

t est le temps d'irradiation (s)

Le nombre de molécules de produit formées par seconde ainsi que le nombre de photons absorbés par seconde étant connu, le rendement quantique de chaque espèce soufrée volatile formée peut être calculé.

Plusieurs méthodes chromatographiques peuvent être utilisées afin de séparer les espèces présentes dans un échantillon : la chromatographie en phase liquide ou la chromatographie en phase gazeuse. Dans notre cas, la méthode utilisée pour séparer les composés responsables de l'apparition du goût de lumière est la chromatographie en phase gazeuse. En effet, le méthane-thiol, le DMDS et le DMTS possèdent tous les trois des points d'ébullition bas et sont facilement analysés par GC (Figure 2.2).¹⁰⁷

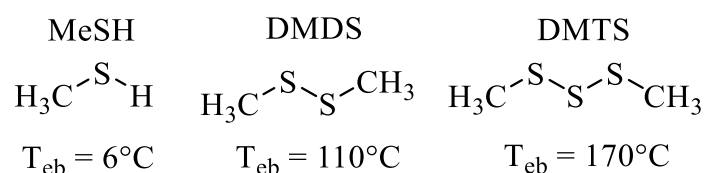


Figure 2.2 : Températures d'ébullition du méthane-thiol, du DMDS et du DMTS.

La mesure quantitative des composés soufrés peut ensuite être faite avec un détecteur MS ou PFPD en fonction de l'appareillage disponible.

2.3 Développement de la méthode analytique

2.3.1 Optimisation de la méthode analytique avec une GC-PFPD et présentation de la SPME

Pour analyser les espèces soufrées volatiles formées lors des irradiations, une méthode analytique doit être développée. Comme cela a été décrit dans l'introduction de ce chapitre, la méthode généralement utilisée pour analyser des composés soufrés volatils tels que le méthane-thiol, le DMDS, ou le DMTS est la SPME-GC-PFPD ou la SPME-GC-MS.^{53,63,108,109} Lors des études présentées dans ce chapitre, nous avons combiné les deux systèmes d'analyse.

Le PFPD est un détecteur principalement utilisé pour l'analyse de composés soufrés ou phosphorés. Sa sensibilité peut être meilleure que celle d'un détecteur MS. Il est donc un détecteur intéressant pour l'analyse quantitative d'espèces soufrées grâce à sa réponse linéaire et équimolaire jusqu'à 0,5 ppb pour la plupart des espèces soufrées volatiles et jusqu'à 0,01 ppb pour certains polysulfures.¹¹⁰ Lors de l'acquisition d'une analyse avec ce détecteur, il est possible d'afficher seulement les pics correspondant aux molécules contenant du soufre en ajustant la fenêtre d'acquisition. La réponse du détecteur est proportionnelle au nombre d'atomes de soufre présents dans la molécule. Ainsi, la sensibilité du détecteur sera meilleure pour le DMDS et le DMTS que pour le méthane-thiol.

La SPME est une technique permettant l'extraction de molécules organiques présentes à faible concentration dans une solution. Le principe est le suivant : les composés sont extraits par adsorption sur une fibre en polymère que l'on peut plonger directement dans la solution (direct immersion – DI) ou bien placer dans l'espace de tête au-dessus de la solution (headspace – HS). Ce procédé ne correspond pas à une extraction totale des composés mais à un équilibre entre la matrice et le revêtement en polymère de la fibre. Après un certain temps d'adsorption, la fibre est insérée dans l'injecteur de la GC et les composés sont désorbés thermiquement. Le gaz vecteur à l'intérieur de la GC entraîne les composés dans la colonne jusqu'au détecteur PFPD ou MS (Figure 2.3).¹¹¹ Cette technique permet donc d'analyser des espèces chimiques sans injecter de solvant dans la GC. En effet, le mélange eau/éthanol peut endommager la colonne ou bien entraîner des problèmes de reproductibilité et de répétabilité.

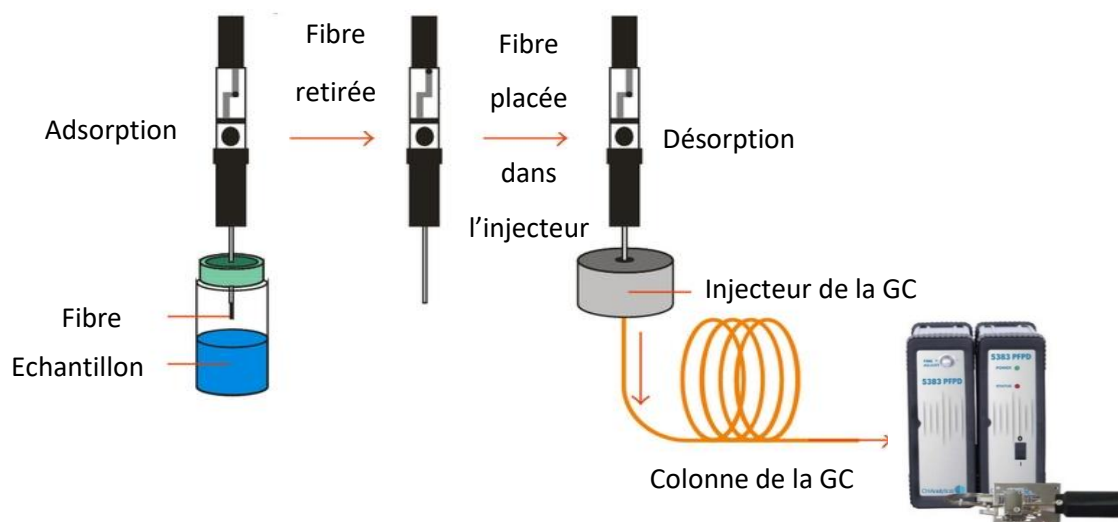


Figure 2.3 : Illustration explicative d'une analyse par HS-SPME-GC-PFPD.

La SPME-GC-PFPD est donc la méthode généralement employée pour l'analyse de composés soufrés volatils en solution aqueuse. Cependant, les fibres SPME sont très fragiles et les analyses sont chronophages lorsque les manipulations sont effectuées manuellement. En effet, l'utilisation de la SPME allonge le temps d'analyse puisqu'il faut conditionner l'échantillon, extraire les composés soufrés et enfin les analyser. C'est pourquoi nous avons exploré des protocoles d'analyse plus rapides des espèces soufrées volatiles qui permettraient de s'affranchir de la SPME.

2.3.2 Injection directe de solutions modèles

Dans un premier temps, des essais ont été faits en injectant directement un mélange eau 88% / éthanol 12% vol. contenant du DMDS et du DMTS. L'injection se faisait en mode splitless à l'aide d'un passeur automatique. En prélevant directement la solution contenue dans les échantillons, il est possible d'utiliser le passeur automatique de la GC-PFPD ce qui permet de gagner du temps ainsi que d'avoir une meilleure répétabilité des mesures. Les analyses réalisées sur un même échantillon contenant du DMDS et du DMTS à 10^{-6} M n'ont pas été concluantes. En effet, en effectuant une série de dix mesures avec les mêmes conditions d'acquisition, les intensités et les aires de pics obtenues étaient très différentes. Certains ajustements ont été apportés à la méthode afin de remédier aux problèmes de répétabilité :

- Augmentation de 2 à 3 du nombre de lavages de la seringue avec du méthanol entre chaque analyse pour éliminer l'eau et l'éthanol résiduels
- Volume d'injection diminué de 2 μL à 0,5 μl pour injecter moins de solvant dans la colonne
- Ajout d'une étape de nettoyage de la colonne en chauffant longtemps en fin d'analyse
- Ajustement du ratio de split jusqu'à 200/1
- Augmentation du débit dans la colonne de 1 mL/min à 2 mL/min

Cependant, aucune de ces modifications n'a permis d'obtenir des aires de pics répétables. L'injection de solutions hydro alcooliques est donc problématique pour l'analyse par GC-PFPD. En effet, ce solvant ne permet pas la mesure précise des composés soufrés par le détecteur.

2.3.3 Extraction des espèces soufrées volatiles avec des solvants organiques

Comme il n'est pas possible d'injecter directement le solvant eau/éthanol dans la GC pour l'analyse du DMDS et du DMTS, des extractions ont été réalisées directement dans l'échantillon à analyser à l'aide d'un solvant organique dans lequel les composés soufrés sont solubles. Le prélèvement du volume d'injection avec la seringue se faisait directement dans la phase organique en paramétrant l'injecteur automatique afin qu'il prélève à la bonne hauteur et dans la bonne phase. Pour chaque condition, des échantillons contenant du DMDS et du DMTS à des concentrations variables ont été analysés afin de réaliser une courbe d'étalonnage. Les conditions expérimentales testées sont présentées dans le Tableau 2.3

Entrée	Gamme de concentration étudiée (μM)	Solvant d'extraction	Centrifugation	Sonication
1	1-8	Dichlorométhane	Non	Non
2	0,5-4	Dichlorométhane	Non	Non
3	1-8	Dichlorométhane	Oui	Non
4	1-4	Dichlorométhane	Oui	Oui
5	1-8	Toluène	Oui	Non
6	1-8	Cyclohexane	Oui	Non
7	1-8	Hexane	Oui	Non

Tableau 2.3 : Conditions expérimentales utilisées pour l'extraction du DMDS et du DMTS par des solvants organiques.

Les extractions avec des solvants chlorés entraînent des perturbations dans la mesure du DMDS et du DMTS (entrées 1 à 4). En effet, des aires de pic très variables et illogiques ont été obtenues, comme par exemple une aire de pic pour une concentration de 3 μM plus grande que pour une concentration à 4 μM et les mesures n'étaient pas reproductibles. Cela est probablement dû à une extraction qui n'est pas complète et surtout non répétable. La présence de faibles quantités d'eau et d'éthanol dans la phase organique peuvent également perturber l'analyse quand celle-ci n'est pas séchée. Afin d'obtenir une meilleure séparation des phases, des étapes de centrifugation et de sonication ont été ajoutées au protocole. Cependant, aucune amélioration de la reproductibilité n'a été observée. L'utilisation de solvants moins polaires tels que le cyclohexane, l'hexane et le toluène n'a pas permis d'obtenir de meilleurs résultats (entrées 5 à 7). Des analyses en séparant le DMDS et le DMTS dans deux échantillons différents afin de vérifier qu'il n'y a pas d'interférences entre les deux composés ont également été réalisées. Les résultats obtenus étaient similaires à ceux observés lorsque le DMDS et le DMTS étaient ensemble, c'est-à-dire une non-reproductibilité des résultats à une même concentration.

Des extractions classiques avec une ampoule à décanter ont également été réalisées. 5 mL d'une solution hydro alcoolique contenant du DMDS et du DMTS ont été extraits par 3 x 5 mL de dichlorométhane puis les phases organiques ont été rassemblées et analysées par GC-PFPD. Encore une fois, nous n'avons pas obtenu de reproductibilité dans les mesures, possiblement en raison d'une mauvaise séparation des phases. En effet, les procédures d'extraction liquide-liquide décrites dans la littérature incluent des étapes de concentration

et de traitement de la phase organique supplémentaires que nous n'avons pas réalisées en raison du temps nécessaire à leur accomplissement.^{112,113}

2.3.4 Développement de la méthode SPME-GC-PFPD

2.3.4.1 *Choix de la fibre et optimisation des conditions d'extraction par SPME*

Les tentatives d'injection directe du solvant eau / éthanol et les extractions du DMDS et du DMTS par des solvants organiques étant infructueuses, une méthode en utilisant la SPME a été développée. De nombreux paramètres sont à prendre en compte lors de l'élaboration d'une méthode SPME. Tout d'abord, il faut choisir la fibre la plus adaptée pour l'étude envisagée. Il existe différentes compositions de fibres qui déterminent la sélectivité de l'extraction en fonction de leur polarité. Les fibres peuvent être constituées de polydiméthylsiloxane (PDMS), de divinylbenzène (DVB), ou de carboxen (CAR) et sont souvent composées d'un mélange de ces matériaux. La fibre en CAR-PDMS est efficace pour l'adsorption de composés soufrés dans les solutions hydroalcooliques et les vins et c'est donc cette dernière qui a été choisie.^{53,102,114} Il faut également déterminer le mode d'extraction des molécules : par immersion (DI-SPME) ou par prélèvement dans l'espace de tête (HS-SPME). La température d'extraction, le temps d'extraction, ainsi que la phase d'équilibrage avant insertion de la fibre dans l'échantillon sont également des paramètres à prendre en compte. Certains paramètres liés à la GC doivent également être optimisés : la hauteur de désorption de la fibre, le temps de désorption de la fibre, ainsi que la température de l'injecteur ont une influence sur la mesure des composés.

Une optimisation des paramètres a donc été faite afin d'obtenir des pics bien définis et intenses dans la gamme de concentrations d'intérêt comprise entre 10^{-5} et 10^{-6} M (Tableau 2.4).

Entrée	Immersion ou espace de tête	Temps de désorption (min)	Ratio de split	Temps d'extraction (min)
1	Immersion	3	Splitless	15
2	Espace de tête	3	50/1	15
3	Immersion	3	50/1	15
4	Immersion	3	100/1	15
5	Immersion	3	200/1	15
6	Immersion	0,5	200/1	15
7	Immersion	7	200/1	15
8	Immersion	7	200/1	5
9	Immersion	7	200/1	30

Tableau 2.4 : Optimisation des conditions expérimentales en utilisant la SPME.

Le mode splitless n'est pas utilisable car trop de produit est injecté et une saturation du détecteur est observée (entrée 1). L'extraction des composés dans l'espace de tête ne permet pas d'obtenir des aires de pics reproductibles car ce mode d'extraction dépend fortement de la température et l'échantillonnage manuel ne permet pas un contrôle de la température assez précis (entrée 2). De plus, l'extraction dans l'espace de tête nécessite des temps d'équilibrage des échantillons plus importants.¹⁰³ Différents ratios de split ont été testés et le ratio 200/1 donne les meilleures résolutions de pic (entrées 3 à 5). En effet, pour un ratio inférieur, les pics du DMDS et du DMTS sont larges et des trainées de pic sont observées.

Des temps de désorption de 30s, 3 min et 7 min ont été testés (entrées 5 à 7). Un temps de désorption de 30s donne les pics les plus symétriques et les mieux résolus mais l'intégralité du DMDS et du DMTS n'est pas désorbé. Il était donc nécessaire de réaliser une étape de conditionnement de la fibre dans l'injecteur avant de pouvoir effectuer une nouvelle analyse ce qui entraîne une perte de temps importante. C'est pourquoi un temps de désorption de 7 min a été choisi. Des temps d'immersion de la fibre de 5, 15 et 30 min ont également été testés (entrées 7 à 9). Un temps d'extraction optimal de 15 min a été déterminé.

2.3.4.2 Choix de l'étalon interne pour l'étalonnage du MeSH, du DMDS et du DMTS

Les fibres SPME pouvant présenter des capacités d'adsorption variables au cours du temps, il est nécessaire d'ajouter un étalon interne lors de chaque analyse.⁵³ Ainsi, pour

réaliser les courbes de calibration des espèces soufrées volatiles, un étalon interne avec un temps de rétention différent des composés d'intérêt est nécessaire. Une solution contenant le DMDS, le DMTS et plusieurs espèces pouvant servir d'étalon interne a été analysée par SPME-GC-MS. Cette étude a été réalisée en collaboration avec le service d'analyse de l'Institut des Sciences Moléculaires avant l'acquisition de la GC-PFPD. Les molécules testées sont présentées dans le Tableau 2.5 ci-dessous.

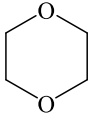
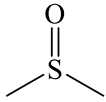
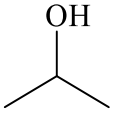

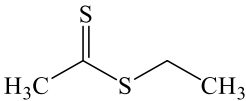
1, 4-Dioxane		Diméthylsulfoxyde		Isopropanol	
Tétrahydrofurane		Ethyle dithioacétate (DTA)			

Tableau 2.5 : Molécules ajoutées à la solution afin de choisir un étalon interne pour l'analyse des espèces soufrées volatiles.

L'éthyle dithioacétate (DTA) est l'étalon interne le plus approprié pour l'analyse des espèces soufrées volatiles. En effet, son pic chromatographique est distinct de ceux du DMDS et du DMTS. De plus, c'est un composé soufré avec une température d'ébullition relativement faible (112°C) et il est donc également possible de l'utiliser lors des mesures effectuées avec la GC-PFPD. Des études de stabilité du DTA dans l'éthanol ont montré qu'il n'était pas dégradé par une réaction de transestérification (Schéma 2.3).

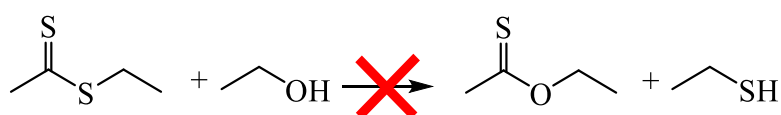


Schéma 2.3 : Réaction de transestérification entre le DTA et l'éthanol.

2.4 Préparation des solutions modèles, conditions expérimentales et courbes d'étalonnage des composés soufrés volatils

2.4.1 Préparation des solutions modèles et conditions expérimentales

Les expériences présentées dans les parties 2.5.2 et 2.6 ont été réalisées avec un instrument GC-MS. Les paramètres d'acquisition utilisés pour cette méthode sont présentés dans la partie expérimentale. Pour ces expériences, une solution de vin synthétique a été préparée en dissolvant 3,5 g d'acide tartrique dans 1 L d'un mélange eau 88% / éthanol 12% vol. et le pH a été ajusté à 3,5 en utilisant une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à 1M. Une solution modèle contenant une concentration en riboflavine de 0,05 mM et une concentration en précurseur soufré étudié (méthionine, acide 4-méthyl(thiobutanoïque) ou 3-(méthylthio)propylamine) de 0,1 mM ont été préparées en utilisant la solution de vin synthétique comme solvant. La solution obtenue était ensuite purgée avec de l'argon pendant 20 minutes avant d'être irradiée dans une cuve de 4 cm de trajet optique avec le banc optique pendant 15 min. Une cuve de 4 cm de trajet optique a été utilisée afin d'absorber tous les photons émis par la source lumineuse. La solution était ensuite ouverte à l'oxygène et transférée dans un pilulier avant d'être analysée par SPME-GC-MS en présence du DTA dilué dans l'éthanol à une concentration finale de $9,15 \times 10^{-5}$ M dans l'échantillon. Pour toutes les autres analyses présentées dans ce chapitre, la SPME-GC-PFPD a été utilisée en suivant un protocole expérimental similaire. La concentration en riboflavine est plus élevée que celle que l'on peut trouver dans un Champagne afin d'assurer l'absorption complète des photons incidents.

Dans les chapitres 2 et 3, des irradiations avec des échantillons contenant des taux variables en oxygène ont été réalisées. La condition nommée « anaérobie » correspond à des irradiations pour lesquelles les échantillons ont été purgés avec un flux d'argon pendant 20 min et qui ne sont pas en contact avec l'air pendant l'irradiation. La condition nommée « aérobie » correspond à des irradiations pour lesquelles les échantillons n'ont pas été purgés avec de l'argon avant irradiation. Enfin, la condition nommée « semi-anaérobie » correspond à des irradiations réalisées en contact avec l'air mais pour lesquelles les échantillons ont été purgés avec de l'argon au préalable. Ces conditions peuvent être trouvées dans les vins et les

Champagnes. En effet, la condition anaérobie correspond à une bouteille de Champagne fermée et saturée en CO₂. La condition semi-anaérobie correspond à une bouteille de Champagne ouverte en contact avec l'air (concentration estimée en oxygène dissous comprise entre 0,5 et 1 mg/L). La condition aérobie correspond à une bouteille de vin ou de Champagne qui est en équilibre avec l'air (concentration estimée en oxygène dissous supérieure à 2 mg/L).

2.4.2 Courbes d'étalonnage des composés soufrés volatils analysés par SPME-GC-PFPD

Pour mesurer les concentrations en espèces soufrées volatiles formées lors des études photochimiques et mécanistiques présentées dans ce chapitre, il est nécessaire de réaliser des courbes d'étalonnage pour chaque composé d'intérêt. Les trois espèces soufrées volatiles formées lors de l'irradiation d'une solution contenant de la méthionine et de la riboflavine sont le méthaneéthiol, le DMDS et le DMTS. C'est pourquoi une calibration a été faite pour ces trois composés en utilisant une solution vin synthétique comme matrice. Les concentrations en DMDS et en DMTS mesurées dans les solutions modèles après irradiation sont de l'ordre de 10⁻⁵ M à 10⁻⁶ M et celles en méthaneéthiol de l'ordre de 10⁻⁴ M à 10⁻⁵ M. Ainsi, des courbes d'étalonnage ont été faites sur ces gammes de concentration. L'oxydation du méthaneéthiol en DMDS et la réaction entre le méthaneéthiol et le DMDS pouvant mener à la formation de DMTS, les courbes d'étalonnage de ces composés ont été faites séparément. Pour chaque concentration de la courbe de calibration, trois mesures ont été effectuées sur des échantillons différents. Afin de s'affranchir d'éventuelles erreurs liées à des variations de la fibre SPME, le DTA à une concentration finale de 10⁻⁶ M dans les échantillons a été ajouté en tant que composé de référence. Cinq concentrations pour chaque espèce soufrée volatile ont été choisies pour réaliser les courbes de calibration et les données ont été modélisées par une régression linéaire. Le protocole complet utilisé pour réaliser ces courbes d'étalonnage ainsi que les paramètres d'analyse de la SPME-GC-PFPD sont détaillés dans la partie expérimentale.

Courbe d'étalonnage du DMDS (Figure 2.4) :

$$[DMDS](mol/L) = \left[\frac{Aire\ DMDS}{Aire\ DTA} \times 1,9061 + 0,0396 \right] \times [DTA](mol/L)$$

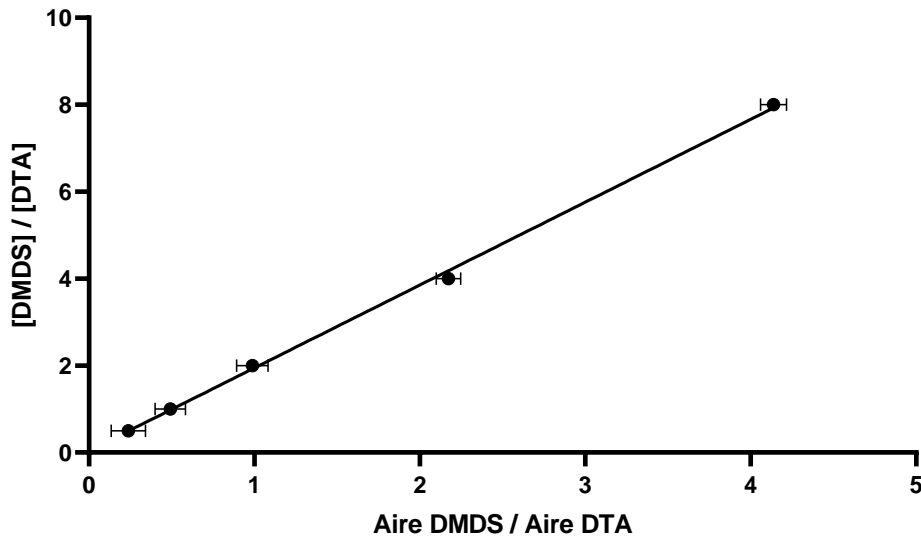


Figure 2.4 : Courbe d'étalonnage du DMDS dans les solutions modèles en mode split avec un ratio 200/1 ($R^2 = 0,998$). 3 mesures sur des échantillons différents pour chaque concentration.

Courbe d'étalonnage du DMTS (Figure 2.5) :

$$[DMTS](mol/L) = \left[\frac{Aire\ DMTS}{Aire\ DTA} \times 3,0295 + 0,0158 \right] \times [DTA](mol/L)$$

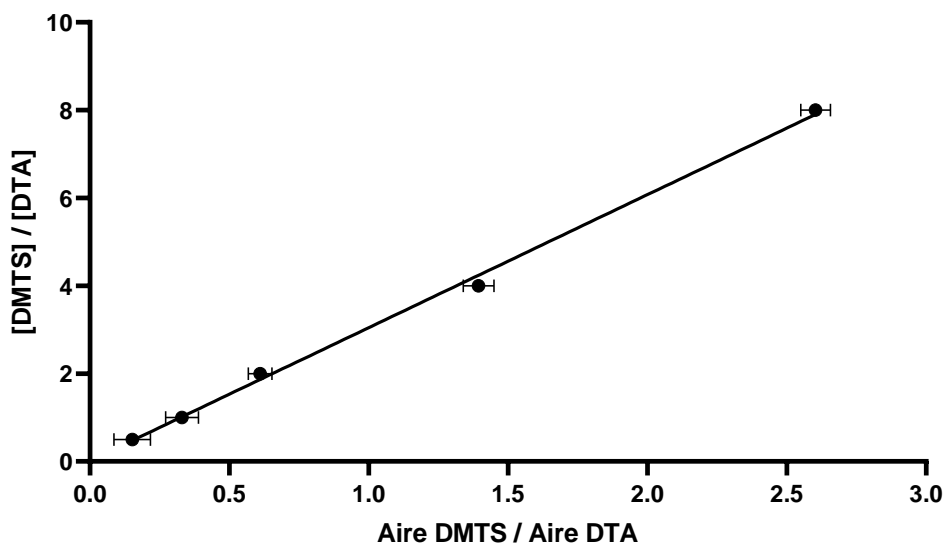


Figure 2.5 : Courbe d'étalonnage du DMTS dans les solutions modèles en mode split avec un ratio 200/1 ($R^2 = 0,996$). 3 mesures sur des échantillons différents pour chaque concentration.

Courbe d'étalonnage du méthaneithiol (Figure 2.6) :

$$[MeSH](mol/L) = \left[\frac{Aire\ MeSH}{Aire\ DTA} \times 66,602 + 0,0524 \right] \times [DTA](mol/L)$$

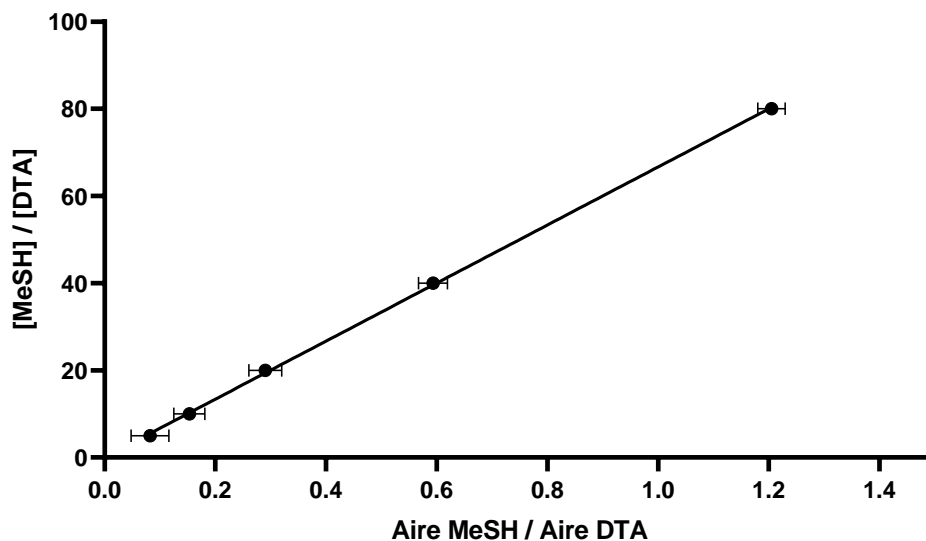


Figure 2.6 : Courbe d'étalonnage du méthaneithiol dans les solutions modèles en mode split avec un ratio 200/1 ($R^2 = 0,997$). 3 mesures sur des échantillons différents pour chaque concentration.

Des courbes d'étalonnage linéaires avec un coefficient de détermination supérieur à 0,995 ont été obtenues, ce qui traduit une bonne correspondance entre la courbe de tendance et les données. Cette calibration permet donc de déterminer les concentrations de méthaneithiol, de DMDS et de DMTS formées dans les solutions modèles de vin irradiées. Le détecteur PFPD ayant un facteur de réponse plus important pour les disulfures et les trisulfures que pour les monosulfures, les aires de pics obtenues pour le méthaneithiol sont moins importantes. De plus, la sélectivité de la fibre SPME joue également un rôle sur l'adsorption des composés soufrés. En effet, la fibre SPME adsorbe plus de disulfures et de trisulfures que de monosulfures.¹¹⁵ C'est pour cela que le coefficient directeur de la droite d'étalonnage est bien plus élevé pour le méthaneithiol.

2.5 Formation photochimique des espèces soufrées volatiles

Dans cette partie, des rendements quantiques des espèces soufrées volatiles formées sont calculés et les valeurs obtenues commentées. L'impact de certains paramètres expérimentaux comme la présence d'oxygène ou le pH de la solution ont été étudiés. Les résultats de cette partie présentent donc le processus de formation des espèces soufrées volatiles ainsi que son efficacité.

2.5.1 Effet de l'oxygène sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles

L'effet de l'oxygène sur la formation des espèces soufrées volatiles a été étudié. Des solutions contenant la riboflavine à une concentration de 0,05 mM et la méthionine à une concentration de 0,1 mM ont été irradiées à 435 nm pendant 15 min avec le banc optique. Pour les deux cas étudiés, les solutions ont été purgées avec un flux d'argon pendant 20 min mais dans un cas, la cuve a été ouverte à l'air pendant l'irradiation (condition semi-anaérobie) alors que dans l'autre cas elle est restée fermée et n'a été ouverte que lors de l'analyse par SPME-GC-PFPD (condition anaérobie). Les résultats sont présentés dans le Tableau 2.6.

Rendement quantique mesuré à 435 nm (concentration)	Sans contact avec O ₂ pendant l'irradiation	Contact avec O ₂ pendant l'irradiation
ϕ MeSH	0,018 (7,74 x 10 ⁻⁶ M)	0,029 (1,19 x 10 ⁻⁵ M)
ϕ DMDS	0,0037 (1,55 x 10 ⁻⁶ M)	0,028 (1,16 x 10 ⁻⁵ M)
ϕ DMTS	3,2 x 10 ⁻⁴ (1,36 x 10 ⁻⁷ M)	7,6 x 10 ⁻⁴ (3,16 x 10 ⁻⁷ M)

Tableau 2.6 : Rendements quantiques de méthaneethiol, DMDS et DMTS en condition anaérobie et semi-anaérobie. Irradiation à 435 nm pendant 15 min. [Rf] = 0,05 mM et [Met] = 0,1 mM.

Les résultats indiquent que les rendements quantiques des trois espèces soufrées volatiles augmentent lorsque la solution est en contact avec l'air pendant l'irradiation. La quantité de DMDS formée est 8 fois plus importante, celle de méthaneethiol 1,6 fois plus importante et celle de DMTS 2,5 fois plus importante. Ainsi, le méthaneethiol et le DMDS sont les espèces majoritairement formées lorsque la solution est en contact avec l'oxygène et les rendements quantiques mesurés sont de 0,03 environ pour chaque espèce. Dans l'autre cas, le méthaneethiol est l'espèce majoritairement formée avec un rendement quantique de 0,018

et le DMDS n'est formé qu'avec un rendement quantique de 0,0037. Le DMTS est formé en faible quantité dans les deux cas.

A la fin de l'irradiation en condition anaérobie, la solution était presque incolore. Cela signifie que la grande majorité de la riboflavine à l'état oxydé a été réduite et que le rendement quantique mesuré est limité par l'absorbance de la solution. En effet, la riboflavine n'est pas réoxydée et elle ne peut plus réagir avec la méthionine lorsque la solution n'est pas en contact avec l'oxygène. (Schéma 2.4). Au contraire, en présence d'oxygène, la riboflavine peut être réoxydée et réagir à nouveau avec la méthionine ce qui explique l'augmentation des rendements quantiques des espèces sulfurées volatiles formées.

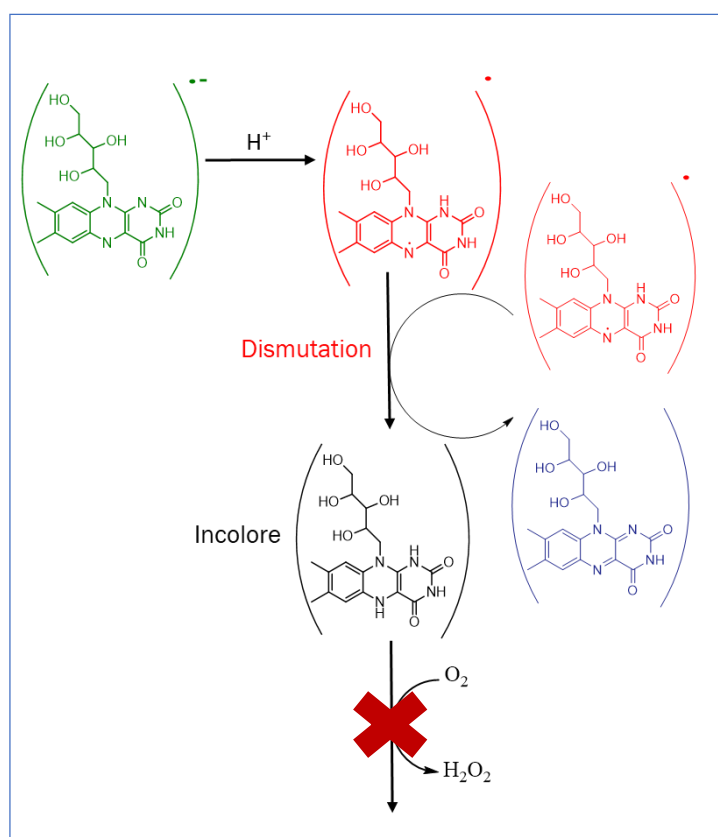


Schéma 2.4 : Formation de riboflavine à l'état réduit incolore en absence d'oxygène.

Cette expérience indique donc que l'accumulation de riboflavine à l'état réduit en absence d'oxygène mène à la formation d'une plus faible quantité d'espèces sulfurées volatiles. L'ouverture du milieu à l'air permet la réoxydation de la riboflavine et la réaction de dégradation de la méthionine peut continuer. Dans tous les cas, l'efficacité de la formation des espèces sulfurées volatiles est importante (2-6%), ce qui est en accord avec la rapidité d'apparition du goût de lumière constatée par les maisons de Champagne.

2.5.2 Influence du pH sur les rendements quantiques de DMDS et DMTS

Le pH de la solution peut avoir une influence sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles formées. En effet, la protonation de la fonction carboxylate de la méthionine, mais aussi l'absorbance de la solution contenant la riboflavine¹¹⁶, peuvent varier en fonction du pH de la solution irradiée. Ainsi, des solutions modèles contenant la riboflavine à une concentration de 0,05 mM et la méthionine à une concentration de 0,1 mM ont été préparées à 9 pH différents compris entre 1,5 et 9. Le pH des solutions modèles a été ajusté en utilisant de l'hydroxyde de sodium à 1M ou de l'acide chlorhydrique à 1M. Les échantillons ont préalablement été purgés avec un flux d'argon puis irradiés pendant 15 min à 435 nm. Pour des pH inférieurs à 2,28 (pKa₁ de la méthionine), la fonction acide carboxylique de la méthionine est majoritairement protonée et le processus d'oxydation de la méthionine pourrait être moins efficace. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 2.7.

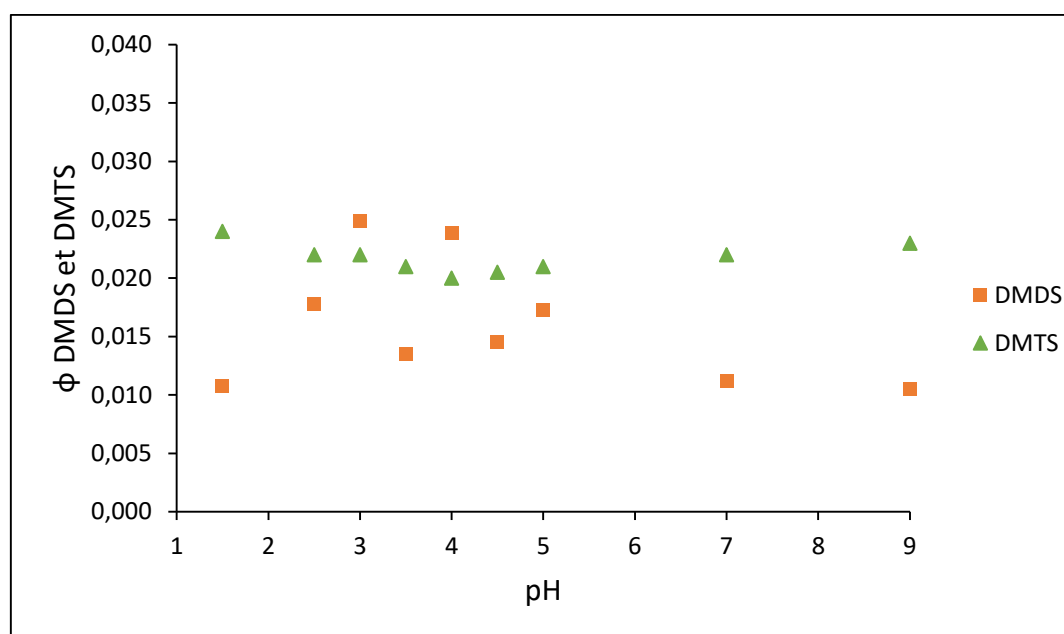


Figure 2.7 : Rendements quantiques du DMDS et du DMTS formés après irradiation à 435 nm pendant 15 min en condition semi-anaérobie et en fonction du pH de la solution. [Rf] = 0,05 mM et [Met] = 0,1 mM.

Les résultats indiquent que le rendement quantique de DMTS est peu affecté par la variation du pH. De légères variations du rendement quantique de DMDS pour certains pH sont observées mais celui-ci oscille globalement autour d'une même valeur si on regarde la gamme de pH dans son ensemble ($\phi = 0,015$ environ). Ces différences peuvent s'expliquer par le fait que l'analyse des échantillons n'a pas été réalisée directement après l'irradiation et que

les analyses ont été faites après des temps de repos différents. En effet, comme cela sera présenté dans le chapitre 3, la concentration en espèces soufrées volatiles augmente après l'irradiation même si l'échantillon est gardé à l'abri de la lumière.

2.5.3 Variation de la concentration en méthionine dans des solutions modèles irradiées

Des travaux de Fracassetti & al. ont montré que la concentration en méthionine dans des solutions de vin synthétique a un grand impact sur la concentration en espèces volatiles formées.⁶³ En effet, d'après les auteurs, la concentration en méthionine aurait plus d'impact que la concentration en riboflavine sur les concentrations en espèces soufrées volatiles formées. Afin d'étudier l'influence des concentrations en riboflavine et en méthionine, les auteurs ont fait varier la concentration en riboflavine entre 0 et 300 µg/L en présence d'une concentration en méthionine fixe de 3 mg/L. Ils ont obtenu des ratios molaires méthionine dégradée / riboflavine dégradée compris entre 1,8 et 8,9 ainsi que des taux de conversion en espèces soufrées volatiles (MeSH, DMDS, DMTS) compris entre 0,7% et 7,6%. Dans une autre expérience, les auteurs ont fixé la concentration en riboflavine à 200 µg/L et ils ont fait varier la concentration en méthionine entre 0 et 13,2 mg/L. Ils ont obtenu des ratio molaires méthionine dégradée / riboflavine dégradée compris entre 0 et 35,5 et des taux de conversion en espèces soufrées volatiles compris entre 2,9% et 13,4%. Ces résultats suggèrent donc que la concentration en méthionine a plus d'influence que la concentration en riboflavine sur les quantités d'espèces soufrées volatiles formées.

Afin d'étudier l'influence de la concentration en méthionine sur le mécanisme de formation des espèces soufrées volatiles, des solutions modèles purgées avec un flux d'argon et contenant des concentrations en méthionine comprises entre 0,02 et 0,2 mM et une concentration en riboflavine fixe de 0,25 mM ont été irradiées à 435 nm puis analysées par SPME-GC-PFPD. Le but de cette étude était de déterminer si les rendements quantiques de DMDS, DMTS et méthane-thiol suivent une évolution similaire lorsque la concentration en méthionine dans l'échantillon augmente. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 2.8.

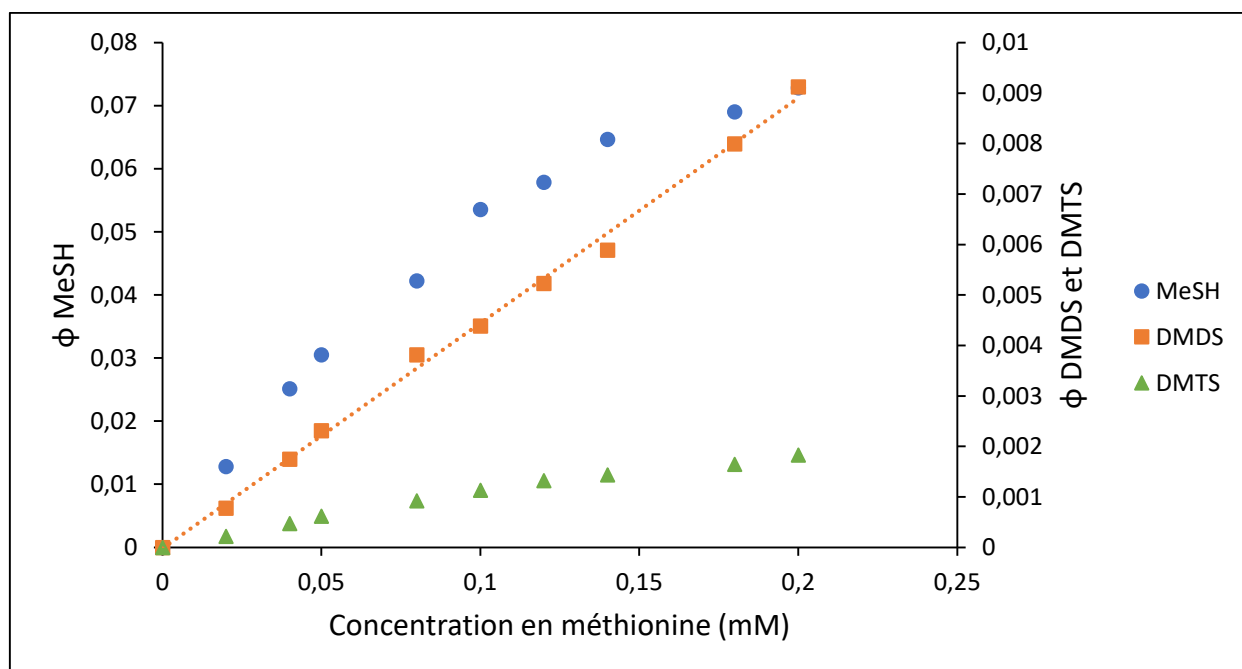


Figure 2.8 : Rendements quantiques de méthaneéthiol, DMDS et DMTS en fonction de la concentration en méthionine. Irradiation à 435 nm pendant 15 min en condition anaérobie. $[Rf] = 0,25$ mM.

Le méthaneéthiol est l'espèce soufrée majoritaire qui est formée. En effet, il représente entre 75% et 85% du soufre total formé et cette proportion diminue lorsque la concentration en méthionine augmente (le soufre total correspond à la somme des rendements quantiques de chaque produit pondérés par le nombre d'atomes de soufre présents dans la molécule). Le DMDS représente entre 10% et 19% du soufre total qui est formé et cette proportion augmente lorsque la concentration en méthionine augmente. La proportion en DMTS est à peu près stable sur cette gamme de concentration et compte pour environ 5% du soufre total formé. La quantité de DMTS formée est donc faible. Cela s'explique par le fait que les échantillons ont été analysés directement après irradiation et que le DMTS est un produit qui est formé en présence d'oxygène après réaction entre le méthaneéthiol et le DMDS. Sa concentration va donc augmenter au cours du temps après irradiation.

Comme l'indique la Figure 2.8, les allures de courbes obtenues pour le méthaneéthiol et le DMDS sont différentes. En effet, la courbe obtenue pour le DMDS peut être modélisée par une droite contrairement à la formation de MeSH. Ainsi, sur cette gamme de concentration, le rendement quantique de DMDS augmente de façon linéaire. Cela suggère donc que le DMDS ne provient pas exclusivement de l'oxydation directe du méthaneéthiol. Il doit donc exister des intermédiaires réactionnels différents pour la formation du méthaneéthiol

d'une part et pour la formation du DMDS d'une autre part. La courbe du rendement quantique du DMTS suit une allure similaire à celle du méthaneithiol car le méthaneithiol correspond à la majorité du soufre total qui est formé.

Afin de déterminer s'il existe une concentration limite en méthionine pour laquelle il n'y a pas formation d'espèces soufrées supplémentaires, la concentration en méthionine a été augmentée jusqu'à 5 mM. Nous souhaitons déterminer si le rendement quantique de DMDS continue à augmenter linéairement. L'absorbance de la solution est restée à peu près constante lors de cette expérience ce qui indique que le processus n'est pas limité par la perte de riboflavine. Les résultats sont présentés sur la Figure 2.9.

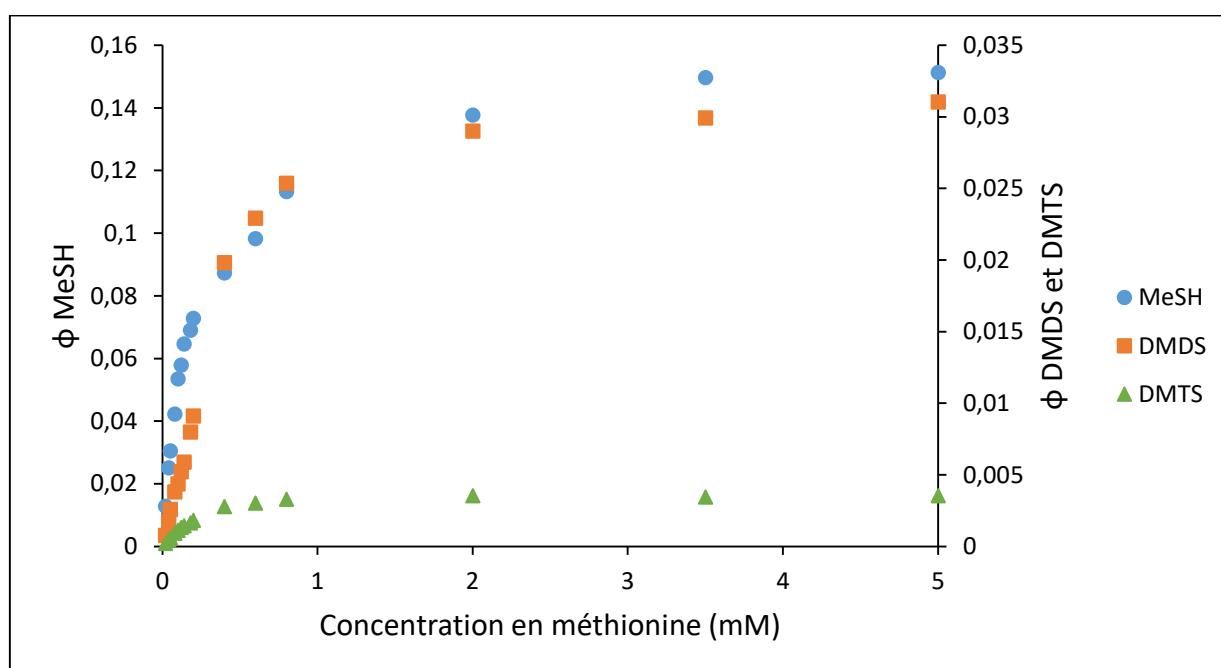
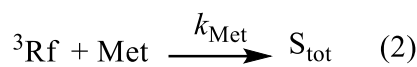
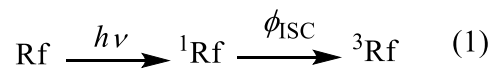


Figure 2.9 : Rendements quantiques du méthaneithiol, DMDS et DMTS en fonction de la concentration en méthionine. Irradiation à 435 nm pendant 15 min en condition anaérobie. [Rf] = 0,25 mM.

Les résultats obtenus indiquent qu'un plateau du rendement quantique est atteint pour toutes les espèces soufrées volatiles à partir d'une certaine concentration en méthionine (entre 2 mM et 3,5 mM en fonction de l'espèce considérée). Cela signifie qu'à partir de cette concentration en méthionine, tous les triplets de la riboflavine sont interceptés.

Les processus impliqués lors de l'irradiation de la solution contenant la riboflavine et la méthionine sont présentés sur le Schéma 2.5. La riboflavine absorbe un photon afin de former un état excité singulet. La plupart de cet état singulet évolue vers un état triplet par

un croisement inter-système ($\phi_{ISC} = 0,7$) (1). La riboflavine à l'état triplet réagit ensuite avec la méthionine avec une constante de vitesse de réaction k_{Met} pour former le méthaneithiol, le DMDS et le DMTS (2). Le soufre total correspond à la somme des concentrations en méthaneithiol, DMDS et DMTS avec un coefficient appliqué correspondant au nombre d'atomes de soufre présents dans la molécule (3). A faible conversion, la concentration en soufre total formée est égale au rendement quantique global de la réaction ϕ_{Stot} multiplié par le nombre de photons absorbés I_{abs} (4).



$$[S_{tot}] = [MeSH] + 2[DMDS] + 3[DMTS] \quad (3)$$

$$[S_{tot}] = \phi_{Stot} \times I_{abs} \quad (4)$$

Schéma 2.5 : Processus photochimiques impliqués lors de la formation des espèces sulfurées volatiles.

Le rendement quantique global de la réaction correspondant au soufre total peut être calculé et analysé par une régression de double réciproque (Figure 2.10).

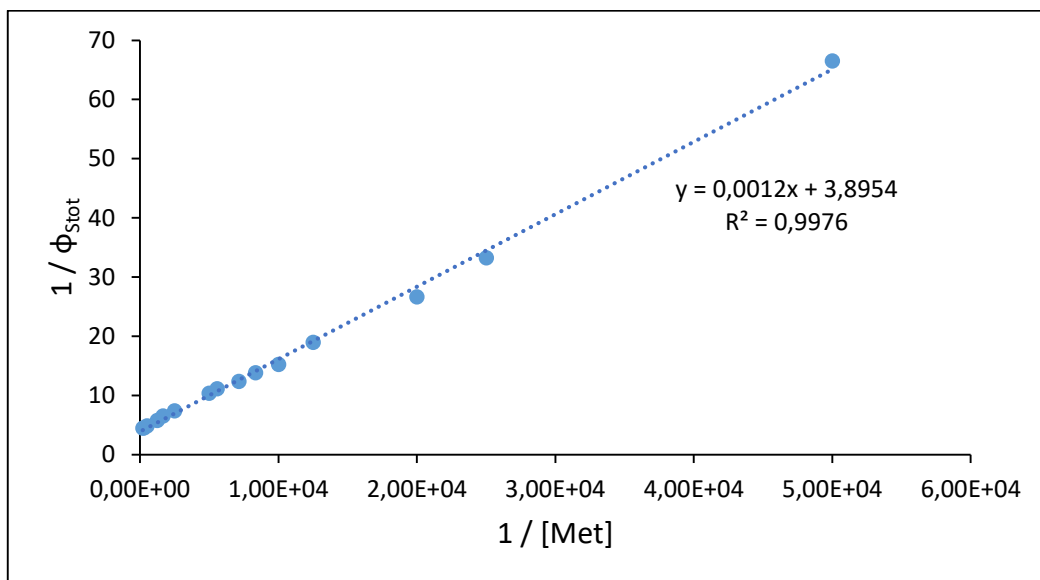


Figure 2.10 : Régression de double réciproque permettant de calculer le rendement quantique global de la réaction de désactivation de la riboflavine par la méthionine.

Une droite dont l'ordonnée à l'origine est égale à 1 divisé par le rendement quantique limite de la réaction est obtenue. En effet, le rendement quantique global de la réaction est défini par l'Equation 2.5 :

$$\frac{1}{\Phi_{\text{Stot}}} = \frac{1}{\Phi_{\text{lim}}} + \frac{1}{\Phi_{\text{lim}} \times k_{\text{Met}} \times \tau_{3\text{Rf}}} \times \frac{1}{[\text{Met}]}$$

Equation 2.5 : Equation de la droite obtenue par régression de double réciproque.

Le rendement quantique limite de la réaction est de 0,26. Cela signifie qu'environ un quart des photons absorbés mènent à l'oxydation d'une molécule de méthionine. Le processus d'oxydation de la méthionine par le triplet de la riboflavine est donc très efficace et estimé à $\phi_{\text{Met}} = 0,37$ ($\phi_{\text{lim}} = \phi_{\text{ISC}} \times \phi_{\text{Met}}$) en prenant le rendement quantique du croisement inter-système permettant de former le triplet de la riboflavine égal à 0,7. La vitesse de réaction du triplet de la riboflavine avec la méthionine est donnée par k_{Met} et peut être estimée par la pente de la droite de la Figure 2.10 (Equation 2.6).

$$0,012 = \frac{1}{0,37 \times k_{\text{Met}} \times \tau_{3\text{Rf}}}$$

Equation 2.6 : Coefficient directeur de la droite obtenue dans la Figure 2.10.

Pour $\tau_{3\text{Rf}} = 15 \mu\text{s}$ (durée de vie du triplet de la riboflavine),²⁸ on trouve $k_{\text{Met}} = 1,5 \times 10^8 \text{ L.mol}^{-1}.\text{s}^{-1}$, ce qui est comparable à la constante de vitesse déterminée par Cardoso & al. par photolyse éclair ($6,4 \times 10^7 \text{ L.mol}^{-1}.\text{s}^{-1}$).²³ La différence est attribuée aux différentes conditions expérimentales utilisées, telles que le pH de la solution (pH = 6,4) et le solvant (H_2O).

Le rendement quantique global des espèces sulfurées formées est élevé. Cela signifie que le processus d'oxydation de la méthionine par le triplet de la riboflavine est très efficace. De plus, comme cela a été présenté dans les parties 2.5.1 et 2.5.2, les rendements quantiques ne sont pas dépendants du pH de la solution irradiée mais ils sont fortement dépendants de l'oxygène. La formation des espèces sulfurées volatiles est donc sensible à la teneur en oxygène présente lors de l'irradiation des solutions modèles.

2.6 Mesures de rendements quantiques avec des analogues de la méthionine

2.6.1 Introduction

Le mécanisme admis dans la littérature pour expliquer la formation du méthaneéthiol et du DMDS est celui proposé par Maujean & al. (Schéma 1.12, page 28).⁴⁹ Selon ce mécanisme, le méthaneéthiol est formé suite à la réaction de type rétro-Michael à partir du méthional qui est lui-même formé après plusieurs étapes de dégradation du radical cation de la méthionine. La formation du DMDS se fait alors par oxydation directe du méthaneéthiol. L'un des points clefs de ce mécanisme est le transfert d'électron intramoléculaire entre la fonction carboxylate de la méthionine et l'atome de soufre oxydé menant à la réaction de décarboxylation (réaction pseudo-Kolbe). Une autre étape clef est l'abstraction d'hydrogène du radical amino- α par la riboflavine semi-réduite. Dans ce mécanisme, les fonctions amine et acide carboxylique de la méthionine sont donc importantes pour expliquer la formation du méthaneéthiol et du DMDS.

Dans la partie 2.5.2, nous avons montré que la formation des espèces soufrées volatiles n'est pas dépendante du pH. Cependant, à des pH inférieurs à 2,3 (pK_{a1} de la méthionine), la fonction acide carboxylique de la méthionine est partiellement protonée. D'après le mécanisme de Maujean & al., l'étape de décarboxylation est importante pour expliquer la formation du méthaneéthiol et du DMDS. Si la fonction acide carboxylique est protonée, l'étape de décarboxylation peut difficilement se faire et une baisse importante des rendements quantiques des espèces soufrées volatiles aurait dû être observée à un pH de 1,5, ce qui n'est pas le cas. De plus, les résultats de la partie 2.5.3 suggèrent que le méthaneéthiol et le DMDS peuvent provenir d'un intermédiaire réactionnel différent, ce qui n'est également pas le cas dans le mécanisme de Maujean & al.

Afin de déterminer l'influence des fonctions amine et acide carboxylique de la molécule de méthionine sur les rendements quantiques de DMDS et de DMTS, des solutions modèles contenant la riboflavine et des analogues structuraux de la méthionine ont été irradiées. Les analogues de la méthionine utilisés sont la 3-(méthylthio)propylamine (MP) et

l'acide 4-méthyl(thiobutanoïque), noté MBA. Ces deux molécules correspondent à la méthionine mais sans la fonction acide carboxylique et sans la fonction amine respectivement.

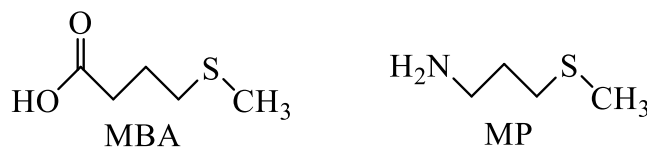


Figure 2.11 : Formules topologiques du MBA et de la MP

Ces fonctions chimiques jouent un rôle important dans le mécanisme de Maujean & al. et les rendements quantiques de DMDS et DMTS devraient être nettement inférieurs lors de l'irradiation de ces composés en présence de riboflavine.

2.6.2 Synthèse du MBA

En premier lieu, l'acide 4-méthyl(thiobutanoïque) a été synthétisé. C'est un analogue structural de la méthionine mais qui ne comporte pas de fonction amine. Il a été synthétisé selon la réaction décrite dans le Schéma 2.6 ci-dessous.

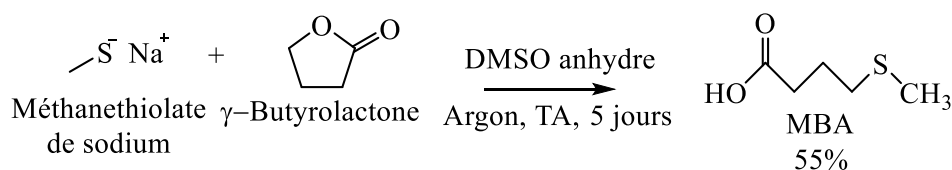


Schéma 2.6 : Synthèse du MBA à partir de méthanethiolate de sodium et de γ -butyrolactone.

L'addition nucléophile du méthanethiolate sur la γ -butyrolactone permet l'ouverture du cycle et la formation du MBA. Cette réaction s'est déroulée pendant 5 jours sous atmosphère inerte selon un protocole de Zhou & al.¹¹⁷ Le MBA a été obtenu avec un rendement de 55% après une purification sur colonne de silice en utilisant l'acétate d'éthyle comme éluant.

2.6.3 Irradiations en présence de méthionine, MBA et MP

Afin d'étudier l'influence des fonctions acide carboxylique et amine sur les rendements quantiques de DMDS et DMTS, des solutions modèles contenant la riboflavine à une concentration de 0,05 mM et un précurseur soufré à une concentration de 0,1 mM ont été irradiées pendant 15 min à 435 nm. Trois précurseurs soufrés ont été utilisés : la méthionine,

le MBA synthétisé et la MP commerciale. Le pH de la solution irradiée était de 3,5 pour la méthionine et la MP et de 5,5 pour le MBA. En effet, en dessous d'un pH de 5,5, la forme carboxylate hydrosoluble du MBA n'est pas prédominante car le pKa de cette molécule se situe autour de 4,8. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 2.7.

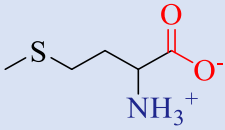
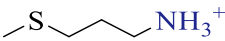
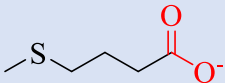
Précurseur soufré	ϕ DMDS	ϕ DMTS
Méthionine 	0,012	0,023
3-(méthylthio)propylamine 	0,010	0,023
Acide 4-méthyl(thiobutanoïque) 	0,011	0,027

Tableau 2.7 : Rendements quantiques de DMDS et DMTS en utilisant la méthionine et ses analogues structuraux comme précurseurs soufrés. Irradiation à 435 nm pendant 15min en condition semi-anaérobie. [Rf] = 0,05 mM et [Met] = 0,1 mM.

Les résultats indiquent que les rendements quantiques de DMDS et DMTS sont très proches. En effet, en fonction du précurseur soufré ajouté, le rendement quantique du DMDS varie entre 0,010 et 0,012 et celui du DMTS entre 0,023 et 0,027. Cela signifie que l'absence des fonctions ammonium et carboxylate n'a pas eu d'effet sur les rendements quantiques du DMDS et du DMTS. Ce résultat est en contradiction avec le mécanisme de Maujean & al. En effet, la dégradation de méthionine en méthanethiol et en DMDS se fait à travers une étape de décarboxylation et une étape d'abstraction d'hydrogène de la fonction ammonium. En irradiant les solutions contenant la MP ou le MBA, les rendements quantiques de DMDS et DMTS auraient dû diminuer.

2.7 Proposition d'un mécanisme alternatif de formation des espèces soufrées volatiles

2.7.1 Présentation du mécanisme

Lors de l'oxydation de la méthionine par le triplet de la riboflavine, le radical cation de la méthionine est formé. Des expériences EPR réalisées par Kominami¹¹⁸ puis par Naito & al.¹¹⁹ ont montré que l'oxydation de la méthionine se faisait préférentiellement sur l'atome de soufre. Dans une étude publiée en 1996, Chaudhri & al. ont étudié l'oxydation des thioéthers par radiolyse pulsée.¹²⁰ Les auteurs ont montré que les radicaux cations de thioéthers peuvent réagir avec d'autres thioéthers et former des dimères radicaux cations possédant une liaison à trois électrons. Ces radicaux cations à trois électrons sont alors en équilibre avec le radical cation initial (Schéma 2.7).

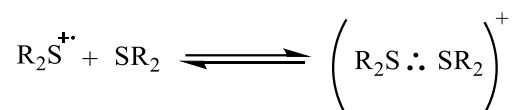


Schéma 2.7 : Formation du dimère radical cation à trois électrons entre le radical cation du thioéther et une autre molécule de thioéther.

Il est important de préciser que les radicaux cations des thioéthers peuvent former des adduits avec l'eau. Les radicaux cations existent principalement sous cette forme en solution aqueuse (Schéma 2.8). Lors de la formation de dimères radicaux cations à trois électrons entre deux espèces soufrées, une molécule d'eau est alors échangée avec un thioéther.

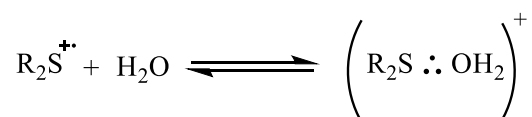


Schéma 2.8 : Formation d'un dimère radical cation à trois électrons entre le radical cation du thioéther et une molécule d'eau.

Par des expériences de radiolyse pulsée en milieu acide, les auteurs ont obtenu le spectre d'absorption transitoire présenté sur la Figure 2.12.

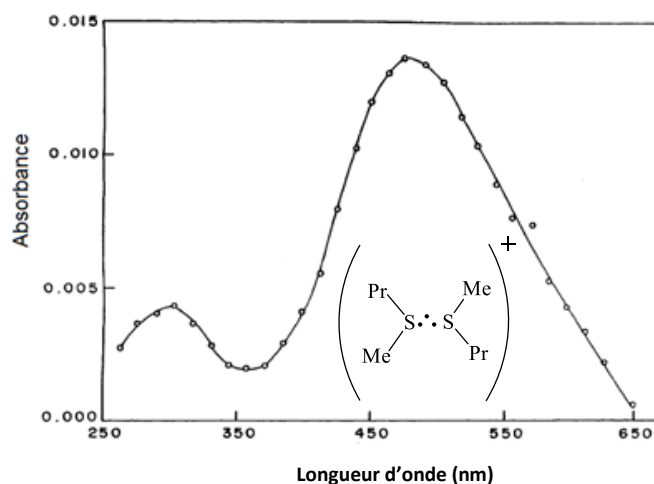


Figure 2.12 : Spectre d'absorption transitoire obtenu par radiolyse pulsée à pH = 3,5 en présence de méthylpropylthioéther. Reproduit avec permission.¹²⁰

Ce spectre d'absorption correspond au dimère radical cation à trois électrons formé suite à la réaction entre le radical cation du méthylpropylthioéther et une autre molécule de méthylpropylthioéther. Cette espèce absorbe entre 420 et 600 nm avec un maximum à 480 nm et un épaulement à 280 nm. En milieu acide, il est donc possible de former des dimères radical cations possédant une liaison à trois électrons. Les auteurs ont également étudié les rapports entre les constantes de vitesse d'association k_a et de dissociation k_{-a} pour la réaction entre le radical cation du diméthylsulfure et plusieurs thioéthers (Tableau 2.8).

Radical cation	Thioéther	$k(\text{Me}_2\text{S}^+ + \text{R}_2\text{S}) = k_a$ / $10^9 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$	$k_{-a} / 10^4 \text{ s}^{-1}$	$K_a = (k_a/k_{-a}) / 10^3$ $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}$
Me₂S⁺	Me ₂ S	3,05	1,5	200
Me ₂ S ⁺	Et ₂ S	2,1	6,3	33
Me ₂ S ⁺	ⁱ Pr ₂ S	1,5	19	7,9
Me ₂ S ⁺	Bu ^t ₂ S	2,15	44	4,8
Me ₂ S ⁺	[MeBu ^t]S	1,5	3,5	43
Bu ^t ₂ S ⁺	[MeBu ^t]S	2,5	> 50	< 5

Tableau 2.8 : Constantes de vitesse de réaction entre le radical cation du diméthylsulfure et des thioéthers.¹²⁰

Par exemple, le rapport des constantes de vitesses de réaction entre le radical cation du diméthylsulfure et une autre molécule de diméthylsulfure (ligne 1, Tableau 2.8) est de $K_a = 2 \times 10^5 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Schéma 2.9).

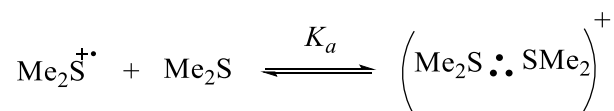


Schéma 2.9 : Equilibre de formation du radical cation à trois électrons du diméthylsulfure.

A l'équilibre, la constante d'association K_a est égale au rapport entre les vitesses d'association et de dissociation. Pour une concentration en diméthylsulfure égale à 0,1 mM, comme c'est le cas pour la méthionine dans les études présentées dans ce chapitre, la constante d'association à l'équilibre peut être calculée avec l'équation suivante (Equation 2.7) :

$$K_a = \frac{k_a}{k_{-a}} = \frac{3,05 \times 10^9 \times [\text{Me}_2\text{S}]}{1,5 \times 10^4} = \frac{3,05 \times 10^9 \times 10^{-4}}{1,5 \times 10^4} = 20$$

Équation 2.7 : Calcul de la constante d'association à l'équilibre pour le diméthylsulfure à une concentration de 0,1 mM.

La constante d'association K_a est égale à 20. Ce résultat montre que la formation du dimère radical cation à trois électrons est très favorisée dans le cas du diméthylsulfure à une concentration de 0,1 mM et cela pourrait donc également être le cas pour la méthionine.

En 2005, Yashiro & al. ont étudié l'oxydation de la méthionine dans des solutions aqueuses en présence de la 2-anthraquinone sulfonate, un photosensibilisateur pouvant former des états triplets. L'état excité triplet de la 2-anthraquinone sulfonate peut oxyder la méthionine par transfert d'électron.¹²¹ Le radical cation formé après irradiation de la solution peut potentiellement évoluer en plusieurs espèces en fonction du pH de la solution utilisée (Schéma 2.10). Les espèces radicalaires formées ont été mise en évidence par spectroscopie résonance paramagnétique nucléaire résolue dans le temps (TR-EPR).

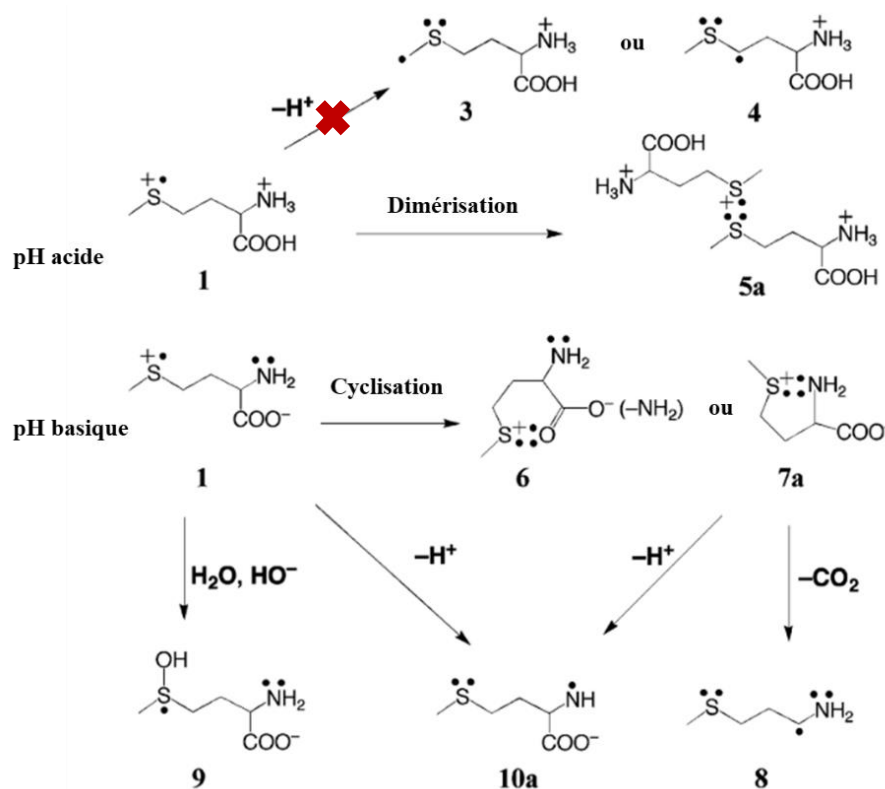


Schéma 2.10 : Espèces potentiellement formées à partir du radical cation de la méthionine en fonction du pH de la solution irradiée.¹²¹

A des pH acides, les auteurs ont seulement observé la formation du dimère radical cation de la méthionine **5a** et les espèces **3** et **4** ne sont pas formées. Le signal EPR obtenu à des pH acides est proportionnel au carré de la concentration en méthionine ce qui signifie que le signal EPR correspond au dimère radical cation à trois électrons **5a** et qu'il ne correspond pas au radical cation **1**. La formation du composé **5a** semble donc favorisée pour des pH acides en utilisant ces conditions expérimentales. A des pH basiques (pH > 9), les auteurs ont exclusivement mis en évidence la formation du radical **10a**. Afin de déterminer si le radical **10a** est directement formé à partir du radical cation **1** par déprotonation ou si l'intermédiaire cyclique **7a** est formé, les auteurs ont utilisé un analogue de la méthionine pour réaliser les irradiations : la *N*-acétylméthionine **2**. Dans ce composé, la fonction amine est remplacée par une fonction amide et cela a pour effet d'augmenter le pKa du proton porté par l'atome d'azote de 15 unités. La réaction de déprotonation menant à la formation du radical **10b** est alors ralentie. (Schéma 2.11)

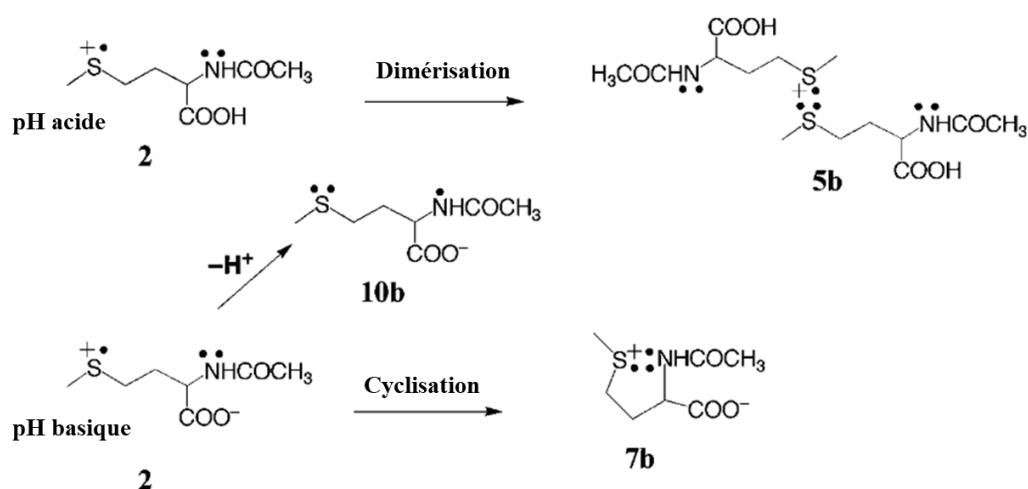


Schéma 2.11 : Espèces formées en utilisant la N-acétylméthionine à la place de la méthionine en fonction du pH de la solution irradiée.¹²¹ Reproduit avec permission.

En irradiant la *N*-acétylméthionine à des pH basiques, les auteurs ont obtenu un spectre EPR correspondant à la formation du radical cyclique **7b**. Ce résultat indique que la détection des radicaux **7a(b)** et **10a(b)** en milieu basique dépend seulement de la vitesse de déprotonation du radical cyclique. Pour des pH acides, le dimère radical cation à trois électrons de la *N*-acétylméthionine **5b** est formé.

Le dimère radical cation à trois électrons de la méthionine a donc déjà été mis en évidence par spectroscopie EPR à des pH acides en solution aqueuse. Le pH du vin et du Champagne étant acide, le dimère radical cation à trois électrons de la méthionine pourrait être formé suite à la réaction d'oxydation de la méthionine par le triplet de la riboflavine. Les résultats des expériences présentées dans les parties 2.5 et 2.6 ainsi que les études de Chaudhri & al. et Yashiro & al. nous amènent à proposer un mécanisme de formation des espèces sulfurées volatiles alternatif à celui admis dans la littérature (Schéma 2.12).

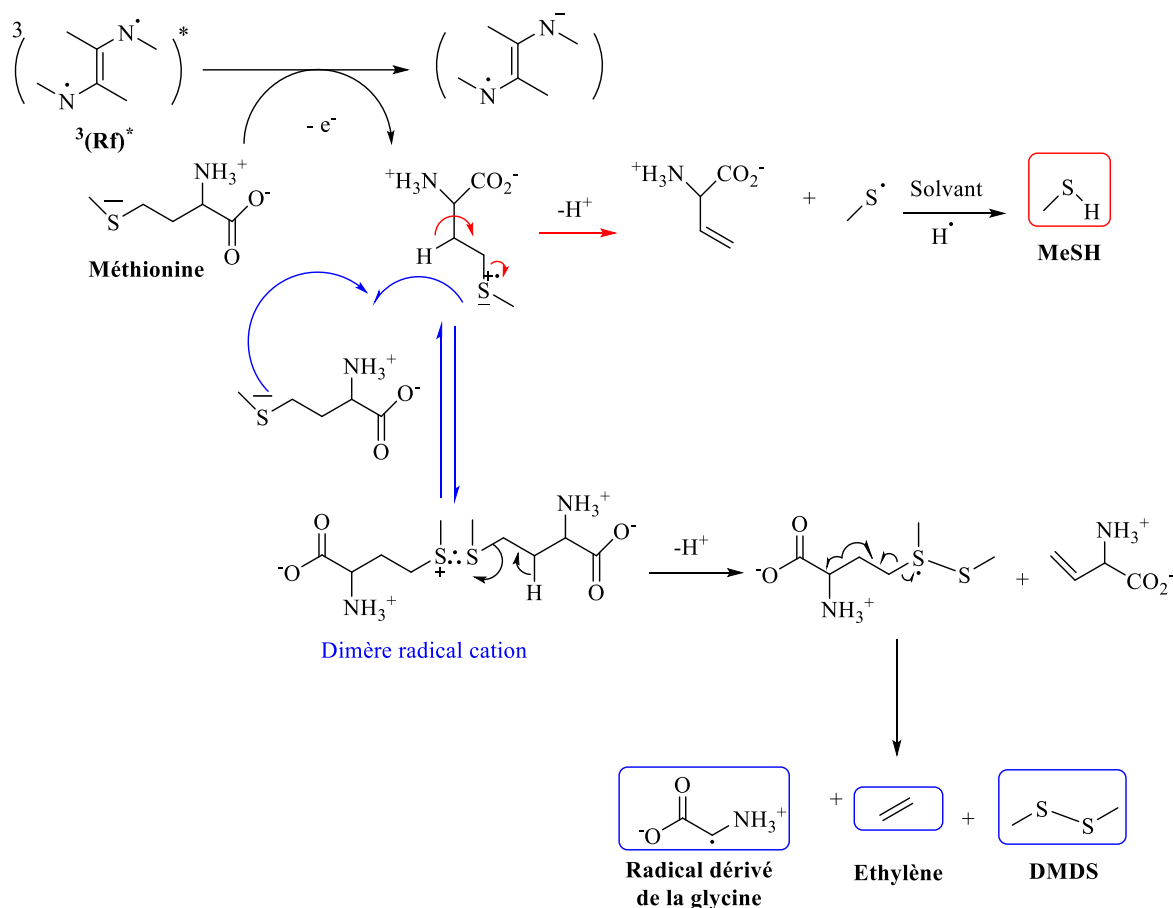


Schéma 2.12 : Proposition de mécanisme de formation du méthaneéthiol et du DMDS selon deux schémas réactionnels différents. En rouge, la formation du MeSH et en bleu la formation du DMDS.

Dans ce mécanisme, la première étape est un transfert d'électron photoinduit entre la riboflavine à l'état triplet et la méthionine pour former le radical cation de la méthionine. Ensuite, il existe deux voies de formation différentes pour le méthaneéthiol et le DMDS. La première voie permet d'expliquer la formation du méthaneéthiol (en rouge dans le Schéma 2.12). Le radical cation de la méthionine subit une β -élimination pour former un radical thiométhyle qui, après abstraction d'hydrogène, forme le méthaneéthiol. La deuxième voie (en bleu dans le Schéma 2.12) permet d'expliquer la formation du DMDS en absence d'oxydant. Le radical cation de la méthionine réagit avec une autre molécule de méthionine pour former un dimère radical cation à trois électrons de la méthionine. Après une étape de β -élimination et une hétérolyse, il y a formation du DMDS, d'un radical dérivé de la glycine et d'éthylène.

Ce mécanisme propose donc deux voies de formation différentes pour le méthaneéthiol et le DMDS. De plus, il explique la formation d'éthylène qui a été observée par Yang & al. en

1967 lors de la dégradation de la méthionine par la FMN.⁶⁷ Plus récemment, une étude de Asaduzzaman & al. a montré qu'il existe une voie de formation du méthaneéthiol alternative à celle communément admise dans la littérature.¹²² Les auteurs ont irradié des solutions modèles à pH = 8 contenant de la riboflavine et de la méthionine et ils ont suivi les espèces formées au cours du temps. Pour rappel, la formation du méthaneéthiol à pH = 8 est généralement expliquée par la dégradation de la méthionine à travers la formation de méthional.^{123,124} Le méthional peu stable est dégradé en méthaneéthiol et autres co-produits tels que l'acide formique, l'éthylène ou l'acroléine. Les auteurs ont montré par transfert de proton couplé à de la spectrométrie de masse (PTR-MS) que le méthaneéthiol est le premier produit formé après seulement 2,3 min d'irradiation. Le DMDS est ensuite formé après 3,5 min d'exposition. Le troisième produit formé est le méthional au bout de 5,3 min. Cela signifie que le méthaneéthiol est formé avant le méthional et que le méthaneéthiol ne provient donc pas exclusivement de la dégradation du méthional. De plus, l'acide formique et l'acroléine qui sont les co-produits de dégradation du méthional en méthaneéthiol sont formés seulement au bout de 29 min et 22,5 min d'exposition respectivement. Ces résultats ont été vérifiés par l'ajout de cyanoborohydrure dans le milieu avant irradiation. Cette molécule permet de bloquer la fonction aldéhyde du méthional par amination réductrice et la dégradation en méthaneéthiol n'est plus possible. Dans ce cas, le signal correspondant au méthaneéthiol augmente également rapidement alors que les signaux correspondant au méthional et à l'acroléine sont négligeables. Ainsi, le méthaneéthiol peut être formé par une autre voie que la dégradation du méthional. Bien que ces expériences aient été faites à un pH = 8, ces résultats sont en accord avec le mécanisme du Schéma 2.12. En effet, le méthaneéthiol formé au début de l'irradiation d'une solution contenant de la riboflavine et de la méthionine ne provient pas de la dégradation du méthional mais d'une réaction de clivage de la méthionine oxydée.

A notre connaissance, le mécanisme de formation du DMTS dans les vins et les solutions modèles de vin n'a pas été élucidé. Une étude de Nishibori & al. suggère que le type de levures et la quantité d'oxygène pourraient jouer un rôle sur la quantité de DMTS finale dans les vins mais aucun mécanisme de formation n'a été proposé.¹⁰¹ Dans la bière, le méthional⁵², le méthionol⁵² et la S-méthylcystéine sulfoxyde¹²⁵ seraient des précurseurs du DMTS. Une étude de Nedjma & al. a montré que la réaction entre des thiols et le sulfure

d'hydrogène en présence de cuivre (II) entraîne la formation de DMTS dans des solutions modèles hydroalcooliques et dans les Cognac.¹²⁶ Cependant, les solutions modèles utilisées pour nos études ne contiennent que de la méthionine et le sulfure d'hydrogène n'est donc pas formé. Ainsi, dans notre cas, le DMTS provient nécessairement d'une réaction impliquant le méthanethiol, le DMDS et l'oxygène. Les espèces réactives de l'oxygène telles que l'anion superoxyde ou les ions hydroxydes pourraient être à l'origine de la formation du DMTS.

2.7.2 Détection de la glycine par GC-MS

Dans le mécanisme proposé pour la formation des espèces soufrées volatiles (Schéma 2.12), l'hétérolyse du radical cation à trois électrons entraîne la formation de DMDS mais aussi d'un radical dérivé de la glycine qui, après abstraction d'hydrogène dans le milieu, peut conduire à la glycine. L'identification de la glycine dans un échantillon irradié corroborerait la formation du dimère radical cation de la méthionine. Pour le mettre en évidence, une solution modèle préalablement purgée contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM et la méthionine à une concentration de 0,01 M a été irradiée pendant 24h à 435 nm afin d'avoir une conversion de la méthionine en espèces soufrées volatiles importante. Le solvant a ensuite été évaporé et le résidu obtenu a été traité par un protocole de dérivation des acides aminés. Cette procédure consiste à silyler les acides aminés présents dans un échantillon afin de les rendre plus volatiles et donc analysables par GC-MS. Le résidu a été dérivé avec un mélange de *N,O*-Bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide (BSTFA) / triméthylchlorosilane (TCMS) en proportions 99/1 dans l'acétonitrile. Le protocole complet est détaillé dans la partie expérimentale. Un échantillon témoin non-irradié et traité avec le même protocole a été dérivé dans les mêmes conditions. L'analyse par GC-MS a montré que la glycine dérivée est présente sous deux formes différentes (Figure 2.13).

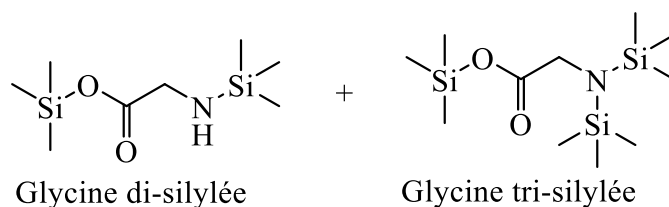


Figure 2.13 : Dérivés de la glycine identifiés par GC-MS après dérivation de l'échantillon irradié et du témoin non-irradié.

Les résultats obtenus pour l'échantillon irradié et pour le témoin non-irradié sont présentés dans le Tableau 2.9. Les valeurs obtenues correspondent aux « valeurs normalisées » (NL) qui expriment l'intensité des pics pour chaque composé.

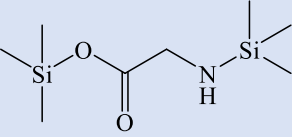
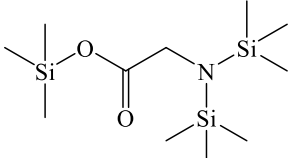
Composé	Témoin non irradié	Echantillon irradié
Glycine di-silylée 	NL = 2.24×10^6	NL = 6.56×10^6
Glycine tri-silylée 	NL = 5.98×10^4	NL = 1.12×10^6
Glycine silylée totale	NL = 2.30×10^6	NL = 7.68×10^6

Tableau 2.9 : Intensités des pics correspondant à la glycine di-silylée et la glycine tri-silylée pour l'échantillon irradié à 435 nm pendant 24h avec des DEL et pour le témoin non-irradié. [Rf] = 0,25 mM et [Met] = 0,01 M.

La quantité de glycine di-silylée est bien plus importante que celle tri-silylée pour les deux échantillons. C'est donc ce dérivé qui est principalement formé lors de la dérivation de la glycine. De plus, la valeur totale d'intensité des pics correspondant à la glycine silylée sous toutes ses formes est 3,5 fois plus élevée dans l'échantillon qui a été irradié que dans l'échantillon témoin. Cela signifie donc que de la glycine a été formée lors de l'irradiation de la solution contenant la méthionine et la riboflavine. Ce résultat est en accord avec le mécanisme du Schéma 2.12 dans lequel la glycine peut être formée par hétérolyse du dimère radical cation de la méthionine. Un autre intermédiaire est formé dans les deux voies mécanistiques présentées dans le Schéma 2.12 : la vinylglycine. Cependant, la formation de vinylglycine n'a pas pu être mise en évidence par GC-MS dans l'échantillon irradié.

2.7.3 Etude de l'encombrement stérique sur le mécanisme de formation des espèces soufrées volatiles

Les processus de recombinaison radicalaire sont généralement peu sensibles à l'encombrement stérique. Au contraire, la formation de radicaux cations à trois électrons est

très sensible aux contraintes stériques, comme cela a été montré par Chaudhri & al. (Tableau 2.10).¹²⁰

Radical cation	Thioéther	$k(\text{Me}_2\text{S}^{\cdot+} + \text{R}_2\text{S}) = k_a$ / $10^9 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$	$k_{-a} / 10^4 \text{ s}^{-1}$	$K_a = (k_a/k_{-a}) / 10^3$ $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}$
$\text{Me}_2\text{S}^{\cdot+}$	Me_2S	3,05	1,5	200
$\text{Me}_2\text{S}^{\cdot+}$	Et_2S	2,1	6,3	33
$\text{Me}_2\text{S}^{\cdot+}$	$i\text{Pr}_2\text{S}$	1,5	19	7,9
$\text{Me}_2\text{S}^{\cdot+}$	Bu^t_2S	2,15	44	4,8
$\text{Me}_2\text{S}^{\cdot+}$	$[\text{MeBu}^t]\text{S}$	1,5	3,5	43
$\text{Bu}^t_2\text{S}^{\cdot+}$	$[\text{MeBu}^t]\text{S}$	2,5	> 50	< 5

Tableau 2.10 : Constantes de vitesse de réaction entre le radical cation du diméthylsulfure et des thioéthers.¹²⁰

Comme l'indique ce tableau, les rapports (K_a) entre les constantes de vitesse d'association k_a et de dissociation k_{-a} diminuent lorsque l'encombrement stérique du substituant présent sur le thioéther augmente. Par exemple, la valeur de la constante d'association entre le radical cation du diméthylsulfure et le diisopropylsulfure ($i\text{Pr}_2\text{S}$) est égale à $7,9 \times 10^3 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Schéma 2.13).

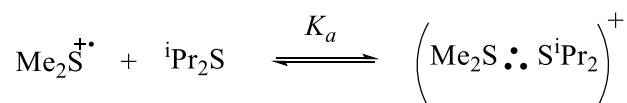


Schéma 2.13 : Equilibre de formation du radical cation à trois électrons.

Pour une concentration en diisopropylsulfure égale à 0,1 mM, comme c'est le cas pour la méthionine lors des études présentées dans ce chapitre, la valeur de la constante d'association à l'équilibre peut être calculée avec l'équation suivante (Equation 2.8)

$$K_a = \frac{k_a}{k_{-a}} = \frac{1,5 \times 10^9 \times [i\text{Pr}_2\text{S}]}{19 \times 10^4} = \frac{1,5 \times 10^9 \times 10^{-4}}{19 \times 10^4} = 0,8$$

Équation 2.8 : Calcul de la constante d'association à l'équilibre entre le radical cation du diméthylsulfure et le diisopropylsulfure à 0,1 mM.

Dans ce cas, la constante d'association est égale à 0,8 et la formation du dimère radical cation est défavorisée. Pour la formation du dimère radical cation du diméthylsulfure, cette constante d'association était de 20 (Equation 2.7). Cela montre donc que la formation du radical cation à trois électrons est très sensible à l'encombrement stérique.

Le dimère radical cation à trois électrons de la méthionine peut être formé suite à la réaction entre le radical cation de la méthionine et une autre molécule de méthionine. Si un analogue de la méthionine est ajouté à une solution contenant la riboflavine et la méthionine, des espèces soufrées volatiles avec des substituants alkyles mixtes devraient être formées. Si le procédé est purement radicalaire et que le dimère radical cation n'est pas formé, un mélange proche du statistique devrait alors être obtenu. Ainsi, des irradiations ont été faites en présence de riboflavine et d'un mélange de méthionine et d'isopropionine (analogue de la méthionine avec un substituant isopropyle au lieu du méthyle). Le but de ces expériences est de déterminer si des espèces « mixtes » issues de la recombinaison entre des résidus de la méthionine et des résidus de l'isopropionine peuvent être identifiées et en quelles proportions (Schéma 2.14).

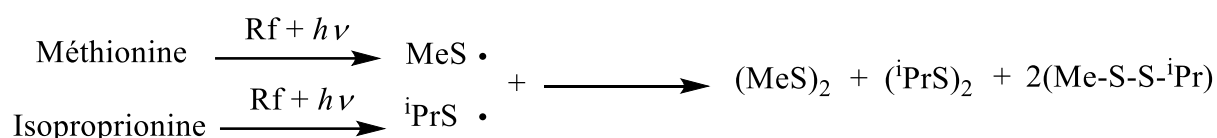


Schéma 2.14 : Mélange statistique pouvant être obtenu suite à l'irradiation d'une solution contenant la méthionine et l'isopropionine en présence de riboflavine.

2.7.3.1 Synthèse de l'isopropionine

La synthèse de l'isopropionine est réalisée en suivant un protocole de Dippe & al. (Schéma 2.15).¹²⁷

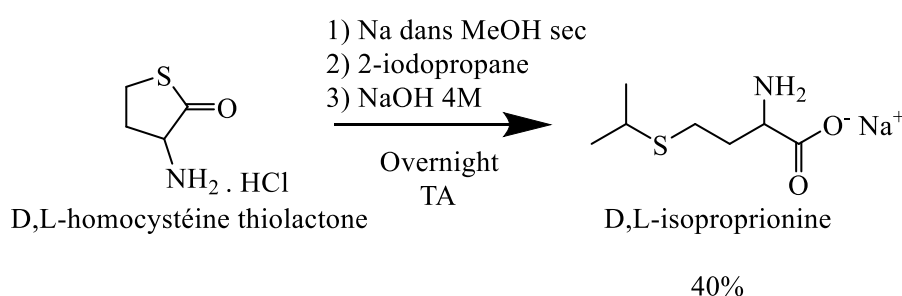


Schéma 2.15 : Synthèse de la D,L-isopropionine à partir de la D,L-homocystéine thiolactone.

La première étape forme le méthanolate de sodium, espèce nucléophile qui permet l'ouverture du cycle thiolactone. La deuxième étape est une substitution nucléophile de l'intermédiaire formé sur le 2-iodopropane qui permet d'introduire le groupement isopropyle sur l'atome de soufre. Enfin, la troisième étape est une saponification qui permet d'obtenir

l'isopropionine souhaitée. La neutralisation de l'intermédiaire permet d'obtenir le sel correspondant ainsi qu'un produit homogène d'un point de vue chromatographique. L'isopropionine a été synthétisée avec un rendement de 40%, proche des 47% obtenus par Dippe & al.¹²⁷ Le protocole complet utilisé pour la synthèse de ce composé est détaillé dans la partie expérimentale.

2.7.3.2 Courbe d'étalonnage du 2-propanethiol

Afin d'identifier les espèces sulfurées volatiles formées en utilisant l'isopropionine à la place de la méthionine, des irradiations en présence de riboflavine à une concentration de 0,25 mM et d'isopropionine à une concentration de 0,1 mM ont été réalisées en utilisant le banc optique. Un seul composé a été détecté par SPME-GC-PFPD en utilisant la méthode d'analyse habituelle : le 2-propanethiol (iPrSH). Cette espèce est l'analogue du méthaneethiol dans le cas de la dégradation de la méthionine. Afin de mesurer les concentrations en 2-propanethiol formées, une courbe d'étalonnage a été réalisée selon le même protocole que pour la courbe d'étalonnage du méthaneethiol, mais en utilisant du 2-propanethiol commercial. Ainsi, quatre concentrations en iPrSH ont été choisies et le DTA à une concentration finale de 10^{-6} M dans l'échantillon a été ajouté (Figure 2.14).

Courbe d'étalonnage du 2-propanethiol

$$[iPrSH](mol/L) = \left[\frac{Aire\ iPrSH}{Aire\ DTA} \times 57,172 + 0,0394 \right] \times [DTA](mol/L)$$

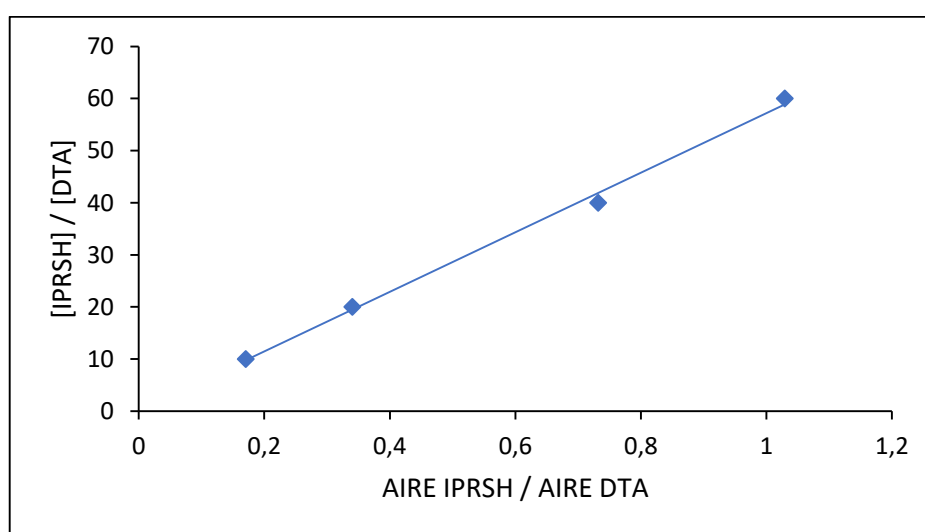


Figure 2.14 : Courbe d'étalonnage du 2-propanethiol en utilisant le DTA comme étalon interne ($R^2 = 0,996$).

Une courbe d'étalonnage linéaire avec un coefficient de détermination supérieur à 0,99 a été obtenue ce qui traduit une bonne correspondance entre la courbe de tendance et les données.

2.7.3.3 Irradiation de solutions modèles contenant l'isopropionine

Dans un premier temps, des solutions contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM et l'isopropionine à une concentration de 0,1 mM ont été irradiées afin de déterminer s'il était possible d'identifier des dimères et des trimères du 2-propanethiol. Un système d'irradiation avec une puissance plus importante et composé de DEL ($\lambda = 440$ nm) a été utilisé afin d'obtenir un taux de conversion élevé en peu de temps. En effet, avec le banc optique, nous n'observons que la formation du 2-propanethiol. Le chromatogramme obtenu après analyse par SPME-GC-PFPD est présenté sur la Figure 2.15.

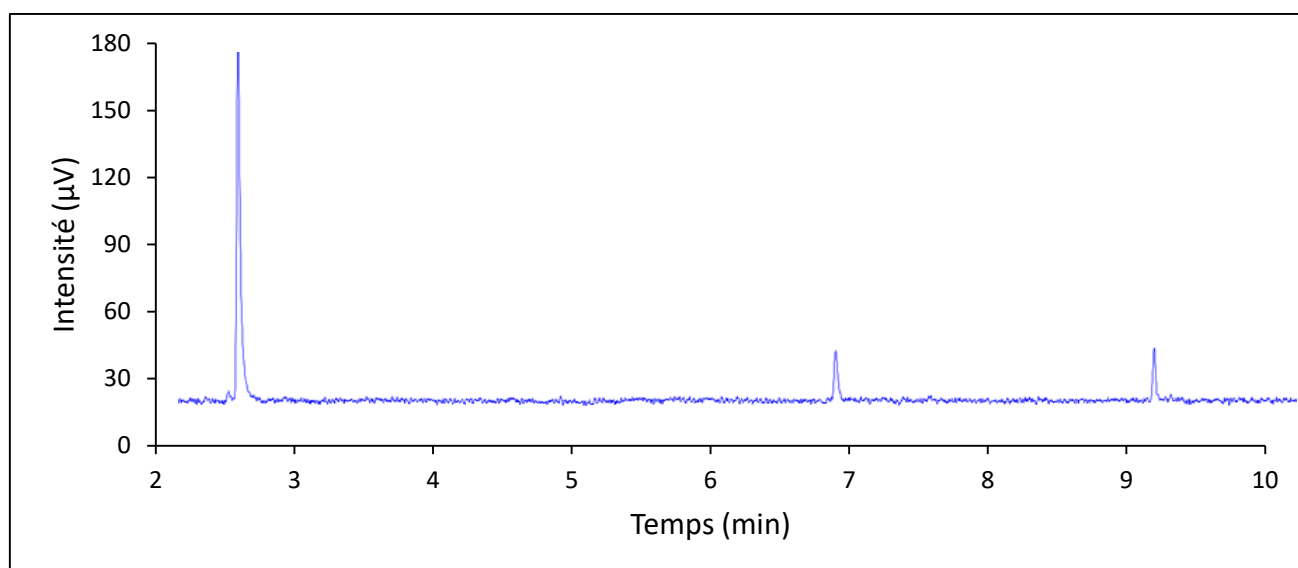


Figure 2.15 : Chromatogramme obtenu par SPME-GC-PFPD après irradiation à 440 nm d'une solution contenant l'isopropionine (0,1 mM) et la riboflavine (0,25 mM) pendant 15 min avec des DEL en condition anaérobie.

Comme l'indique cette figure, 3 pics distincts sont présents sur le chromatogramme : un pic à 2,6 min, un pic à 7 min et un pic à 9,3 min. Afin de déterminer les structures chimiques correspondant à ces pics, l'échantillon a été analysé par GC-MS. Les molécules correspondant à ces 3 pics sont les suivantes : le 2-propanethiol, le diisopropyldisulfure et le diisopropyltrisulfure (Figure 2.16). Des produits de dégradation analogues à ceux observés avec la méthionine mais

avec un groupement isopropyle à la place du groupement méthyle sont donc formés lorsque l'isopropionine est irradiée en présence de riboflavine.

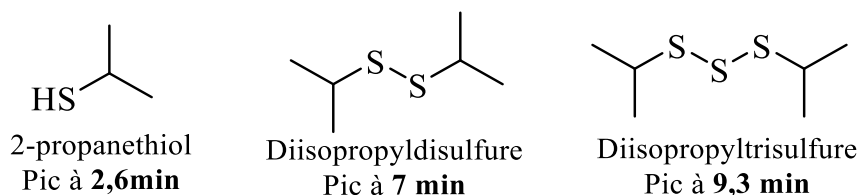


Figure 2.16 : Structures des molécules correspondants aux trois pics mis en évidence par GC-MS.

Le détecteur PFPD ayant un facteur de réponse plus important pour les polysulfures que pour les monosulfures, une très grande majorité du 2-propanethiol par rapport à son dimère et à son trimère est formée. En effet, dans le cas de la méthionine, les aires de pics correspondant au DMDS et au DMTS sont bien plus importantes (20 fois plus). Deux hypothèses peuvent être formulées :

- La conversion du 2-propanethiol en diisopropyldisulfure est plus lente que celle du méthaneethiol.
- L'encombrement stérique lié au groupement isopropyle empêche la formation du dimère radical cation à trois électrons issu de la réaction entre le radical cation de l'isopropionine et une autre molécule d'isopropionine. Une plus faible concentration en diisopropyldisulfure serait alors formée lorsque l'isopropionine est irradiée par rapport à la concentration en DMDS formée lorsque la méthionine est irradiée.

2.7.3.4 Irradiation de solutions modèles contenant l'isopropionine et la méthionine

Afin d'identifier les espèces soufrées volatiles formées lorsque les deux précurseurs soufrés sont mélangés, des irradiations ont été réalisées avec l'isopropionine, la méthionine et la riboflavine. Rapidement, il a été observé qu'il était nécessaire de mettre un excès d'isopropionine par rapport à la méthionine pour observer les produits issus de la dégradation de l'isopropionine. En effet, seuls les pics de méthaneethiol, DMDS et DMTS étaient présents lors de l'analyse par SPME-GC-PFPD. Ainsi, pour les résultats présentés sur la Figure 2.17, un ratio 25 pour 1 d'isopropionine par rapport à la méthionine a été utilisé. De manière analogue aux expériences effectuées en présence d'isopropionine seule, les irradiations ont été faites

en utilisant des DEL ($\lambda = 440\text{nm}$) afin d'avoir un taux de conversion important. Les échantillons obtenus après irradiation ont été analysés par SPME-GC-PFPD et le chromatogramme obtenu est présenté dans la Figure 2.17.

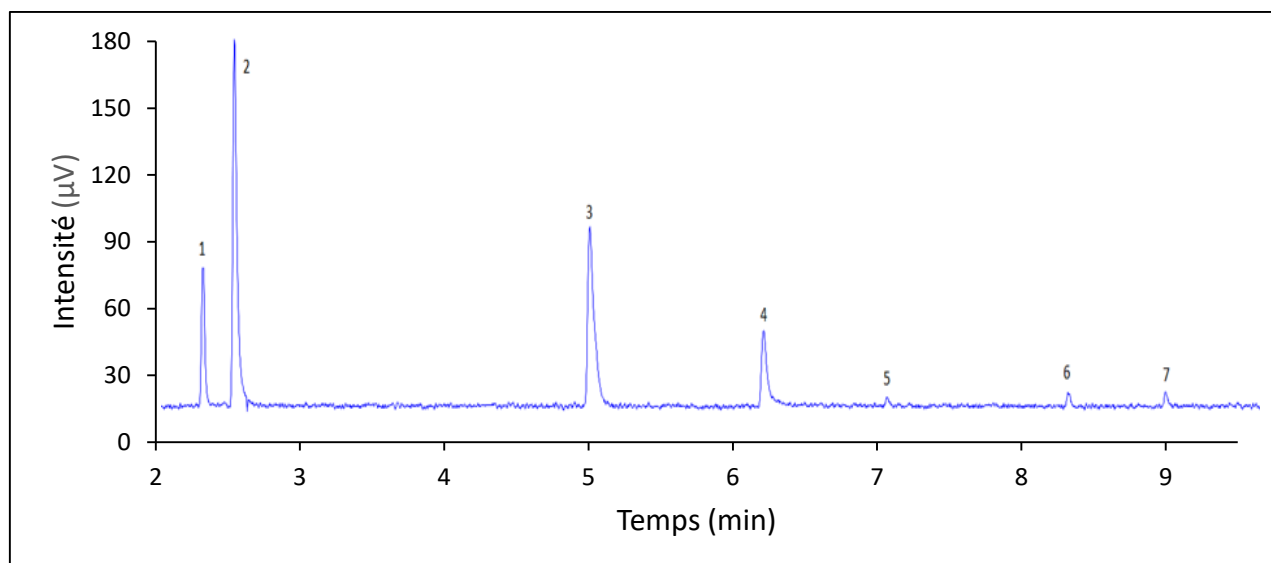


Figure 2.17 : Chromatogramme obtenu par SPME-GC-PFPD après irradiation à 440 nm d'une solution contenant l'isopropionine et la méthionine (ratio molaire 25 / 1) en présence de riboflavine (0,25 mM) en condition anaérobie.

Comme l'indique cette figure, 7 pics distincts sont obtenus. Certains pics ont déjà été attribués par GC-MS : le pic 1 correspond à du méthanethiol, le pic 3 correspond à du DMDS et le pic 6 correspond à du DMTS. Ces 3 pics correspondent donc à la dégradation de la méthionine. Les pics 2 et 5 ont également déjà été identifiés puisqu'ils sont présents dans l'échantillon irradié avec l'isopropionine seule : ils correspondent respectivement au 2-propanethiol et au diisopropyldisulfure. Ces pics sont donc issus de la dégradation de l'isopropionine. Lors de cette expérience, le diisopropyltrisulfure n'a pas été observé. Deux pics inconnus supplémentaires sont présents sur le spectre obtenu par GC-PFPD : le pic 4 et le pic 7. Afin d'identifier les structures associées à ces pics, l'échantillon a été analysé par GC-MS et les molécules correspondantes à ces pics sont présentées sur la Figure 2.18.

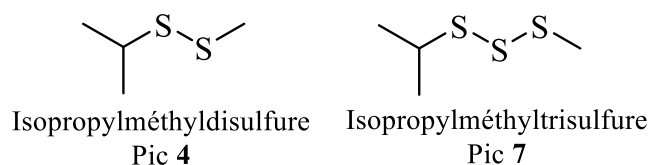


Figure 2.18 : Structures des molécules correspondant aux pics 4 et 7 mises en évidence par GC-MS.

Ces molécules sont des produits « mixtes » issus de la recombinaison entre des radicaux issus de la méthionine et des radicaux issus de l'isopropionine. Cela signifie donc qu'il existe une interaction entre les produits de dégradation de la méthionine et ceux de l'isopropionine. En effet, ces molécules correspondent typiquement à des produits obtenus après réaction entre le radical cation d'un des précurseurs soufrés (méthionine ou isopropionine) et une autre molécule d'un des précurseurs soufrés.

Afin de déterminer le rendement quantique du 2-propanethiol et de pouvoir le comparer à celui de méthanethiol, nous avons mesuré les rendements quantiques en 2-propanethiol obtenus en faisant varier la concentration en isopropionine dans les échantillons. Pour cela, des solutions modèles préalablement purgées contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM et l'isopropionine à des concentrations variant entre 0,1 mM et 2 mM ont été irradiées avec le banc optique à 435 nm. Les résultats sont présentés dans la Figure 2.19 ci-dessous.

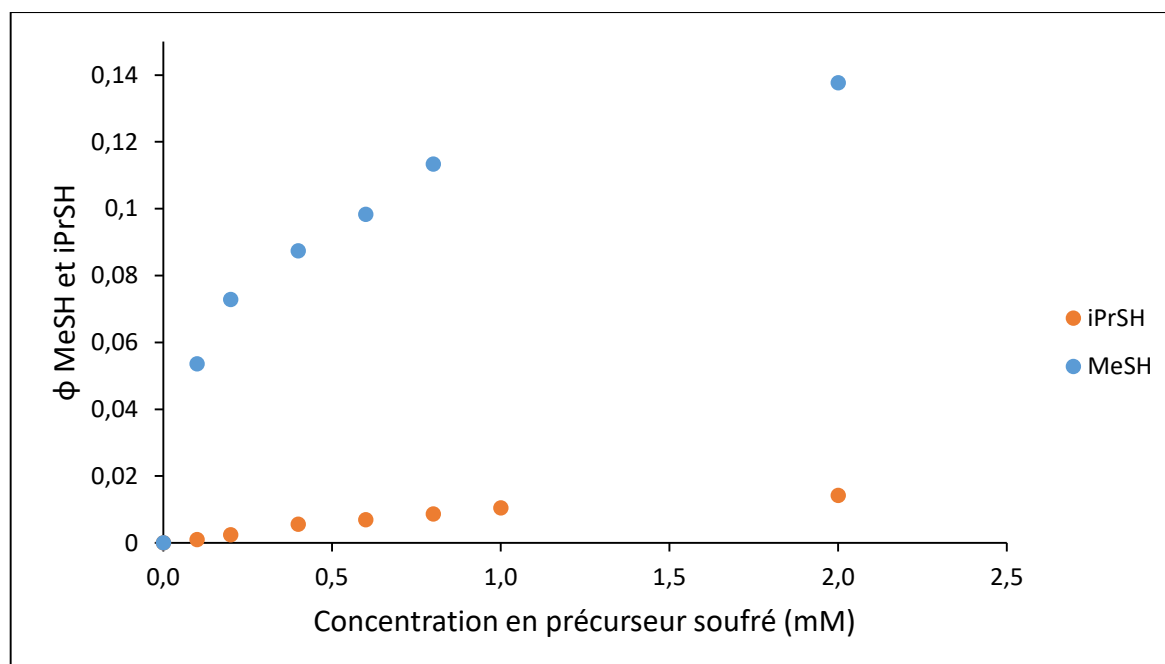


Figure 2.19 : Rendements quantiques du méthanethiol et du 2-propanethiol en fonction de la concentration en précurseur soufré étudié. Irradiation à 435 nm avec le banc optique en condition anaérobie. [Rf] = 0,25 mM

Comme l'indique ce graphique, la dégradation de la méthionine en espèces soufrées volatiles est bien plus efficace que celle de l'isopropionine. En effet, pour une concentration de 0,4 mM en précurseur soufré, le rendement quantique de MeSH est 15 fois plus élevé que

celui de l'iPrSH. Afin de déterminer si un mélange statistique est obtenu lors de l'irradiation d'une solution contenant la méthionine et l'isopropionine, les rendements quantiques du 2-propanethiol et du méthaneethiol ont été mesurés dans différents cas. Les irradiations ont été réalisées avec le banc optique à 435 nm en présence de riboflavine et de plusieurs concentrations en isopropionine et en méthionine :

- 1er cas : isopropionine seule à 0,4 mM
- 2ème cas : isopropionine à 0,4 mM et méthionine à 0,1 mM (ratio 4 : 1)
- 3ème cas : isopropionine à 0,4 mM et méthionine à 0,4 mM (ratio 1 : 1)

Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 2.11 ci-dessous.

	Cas 1	Cas 2	Cas 3
ϕ MeSH	/	0,025	0,042
ϕ iPrSH	0,0056	0,0039	0,0012

Tableau 2.11 : Rendements quantiques du méthaneethiol et du 2-propanethiol en fonction de leur concentration dans les échantillons irradiés à 435 nm.

Les résultats montrent que plus la proportion en méthionine dans l'échantillon est importante et plus le rendement quantique de formation du 2-propanethiol est faible. De plus, le rendement quantique de méthaneethiol est largement plus élevé (7 fois plus) que celui de l'isopropionine, même lorsqu'il y a un ratio de 4 pour 1 en faveur de l'isopropionine (cas 2). Le cas 3 correspond à un mélange équimolaire d'isopropionine et de méthionine. Lorsque les irradiations sont réalisées avec la méthionine seule et l'isopropionine seule, le rendement quantique de méthaneethiol est 15 fois plus élevé que celui du 2-propanethiol. Le tableau ci-dessous permet de comparer les rendements quantiques obtenus dans les différents cas (Tableau 2.12).

	Méthionine seule	Isopropionine seule	Mélange équimolaire à 0,4 mM
ϕ MeSH	0,87	/	0,042
ϕ iPrSH	/	0,0056	0,0012

Tableau 2.12 : Comparaison entre les rendements quantiques du méthaneethiol et du 2-propanethiol en fonction de leur concentration dans les échantillons irradiés à 435nm.

Lors de l'irradiation simultanée des deux composés, le rendement quantique de méthaneethiol est divisé par deux et celui du 2-propanethiol est divisé par 4,5. Le rendement

quantique de méthane-thiol est donc 34 fois supérieur à celui du propanethiol. En irradiant les deux composés simultanément, un mélange statistique n'est donc pas obtenu. Cela suggère que le mécanisme est très sensible à l'encombrement stérique.

Cette étude a mis en évidence les interactions entre des résidus issus de la dégradation de la méthionine et des résidus issus de la dégradation de l'isopropionine. Ces résultats suggèrent l'existence d'un mécanisme pour lequel un radical cation à trois électrons est formé. De plus, l'isopropionine est plus lentement dégradée que la méthionine.

2.8 Conclusion du chapitre 2

L'optimisation de la méthode analytique a montré qu'il n'était pas possible d'injecter directement un mélange eau/éthanol dans la colonne de la GC-PFPD pour détecter les espèces sulfurées volatiles de manière reproductible. Une méthode avec la SPME a donc été développée. Elle a permis d'établir des courbes d'étalonnage pour les trois composés d'intérêt de cette étude : le méthane-thiol, le DMDS et le DMTS.

Les études présentées dans ce chapitre ont mis en évidence l'effet de l'oxygène sur les rendements quantiques des espèces sulfurées volatiles formées. Lorsque la solution préalablement purgée avec de l'argon est en contact avec l'air pendant l'irradiation, les rendements quantiques augmentent. Cela est dû au fait que la riboflavine est réoxydée en présence d'oxygène. L'étude sur la variation de la concentration en méthionine dans les échantillons irradiés a montré que le processus d'oxydation de la méthionine par le triplet de la riboflavine est très efficace.

Nos études indiquent que le mécanisme admis dans la littérature selon lequel le DMDS provient exclusivement de l'oxydation directe du méthane-thiol est incomplet. En effet, l'irradiation d'analogues structuraux de la méthionine (MBA et MP) en présence de riboflavine montre que les rendements quantiques des espèces sulfurées volatiles formées sont constants, même en l'absence des fonctions carboxylate et ammonium. Les rendements quantiques de DMDS et DMTS sont également à peu près constants en fonction du pH de la solution irradiée. Ces résultats sont en désaccord avec le mécanisme de Maujean & al. dans

lequel ces paramètres devraient avoir une influence sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles.

Un mécanisme dans lequel il existe deux voies de formation différentes pour le méthane-thiol et le DMDS est proposé. Le DMDS peut ainsi être formé par hétérolyse d'un dimère radical cation à trois électrons de la méthionine. Ces espèces sont formées à des pH acides, comme l'indiquent plusieurs articles dans la littérature. Pour justifier le mécanisme proposé, nous avons mis en évidence la formation de glycine dans des échantillons irradiés. En effet, cette espèce est formée lors de l'hétérolyse du dimère radical cation de la méthionine. De plus, des irradiations en présence d'isopropionine et de méthionine ont montré que des espèces issues de recombinaisons radicalaires entre les résidus de la méthionine et les résidus d'isopropionine sont formées. Ces produits soufrés mixtes correspondent typiquement à des produits de dégradation d'un radical cation à trois électrons possédant un groupement isopropyle sur un soufre et un groupement méthyle sur l'autre. De plus, la mesure des rendements quantiques du 2-propanethiol et du méthane-thiol indique que le mélange obtenu n'est pas statistique.

Chapitre 3 : Etudes photochimiques sur des matrices complexes

3.1 Introduction

Lors de l'apparition du goût de lumière, il existe de nombreux paramètres qui peuvent influencer la formation des espèces soufrées volatiles. En effet, les vins et les Champagnes sont des matrices complexes qui contiennent des sulfites et des sucres à forte concentration. De plus, les vins ont des pH et des taux en oxygène variables. Nous avons choisi d'étudier les paramètres qui peuvent avoir le plus d'influence sur la formation des espèces soufrées volatiles. La longueur d'onde d'irradiation des solutions contenant de la riboflavine et de la méthionine est un paramètre important à étudier. Les longueurs d'onde pour lesquelles la riboflavine absorbe le plus se situent entre 300 nm et 500 nm. Il est donc important de déterminer si les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles varient sur cette gamme de longueurs d'onde. Le taux d'oxygène est également un facteur prépondérant dans la formation du goût de lumière. Comme cela a été présenté dans le chapitre 1, la riboflavine à l'état triplet peut préférentiellement réagir avec l'oxygène selon un mécanisme de type II ou bien avec un substrat tel que la méthionine selon un mécanisme de type I. Lorsqu'un mécanisme de type I est favorisé, les concentrations en espèces soufrées volatiles formées devraient être plus élevées. Les sulfites et les sucres peuvent également avoir une influence sur les rendements quantiques du méthaneéthiol, du DMDS et du DMTS et leur effet a donc été analysé. Les sulfites sont présents sous plusieurs formes en fonction du pH de la solution étudiée. Ainsi, dans la gamme de pH d'intérêt pour notre étude (entre 3 et 4), l'influence du pH sur la formation des espèces soufrées volatiles a aussi été approfondie.

Au contraire, nous avons choisi de ne pas étudier l'influence de la température lors de ces études. En effet, le vieillissement des vins et des Champagnes liés à la température font intervenir d'autres mécanismes qui sont indépendants du goût de lumière.¹²⁸ Dias & al. ont montré que la température provoque l'oxydation des vins seulement à partir de 45°C.¹²⁸ Cette température n'est jamais atteinte dans les conditions classiques de stockage des vins blancs et des Champagnes ou lors des irradiations effectuées dans le cadre des expériences de ce chapitre. L'effet de la température n'est donc pas un paramètre important à prendre en compte dans ces travaux.

3.2 Influence de la longueur d'onde d'irradiation sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles

La longueur d'onde d'irradiation a une influence sur la formation du goût de lumière. En effet, la riboflavine absorbe principalement entre 300 et 500 nm avec des maximums d'absorbance autour de 365 nm et 445 nm. Au-delà de 470 nm, la riboflavine absorbe peu. Les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles ont été mesurés en faisant varier la longueur d'onde d'irradiation entre 300 et 500 nm afin de déterminer s'ils sont indépendants de la longueur d'onde. Pour ceci, des solutions contenant la riboflavine à une concentration de 0,05 M et la méthionine à une concentration de 0,1 mM ont été irradiées avec cinq longueurs d'onde différentes allant de 365 nm à 490 nm puis analysées par SPME-GC-PFPD. Les solutions ont été purgées pendant 20 min avec de l'argon puis irradiées pendant 15 min ($\lambda = 365, 405$ ou 435 nm) ou 40 min ($\lambda = 470$ ou 490 nm) en condition semi-anaérobie. Lors de l'irradiation, la cuve était en contact avec l'air pour que la riboflavine soit sous forme oxydée et que l'absorbance de la solution ne varie pas (condition semi-anaérobie). Les résultats obtenus sont présentés sur la Figure 3.1.

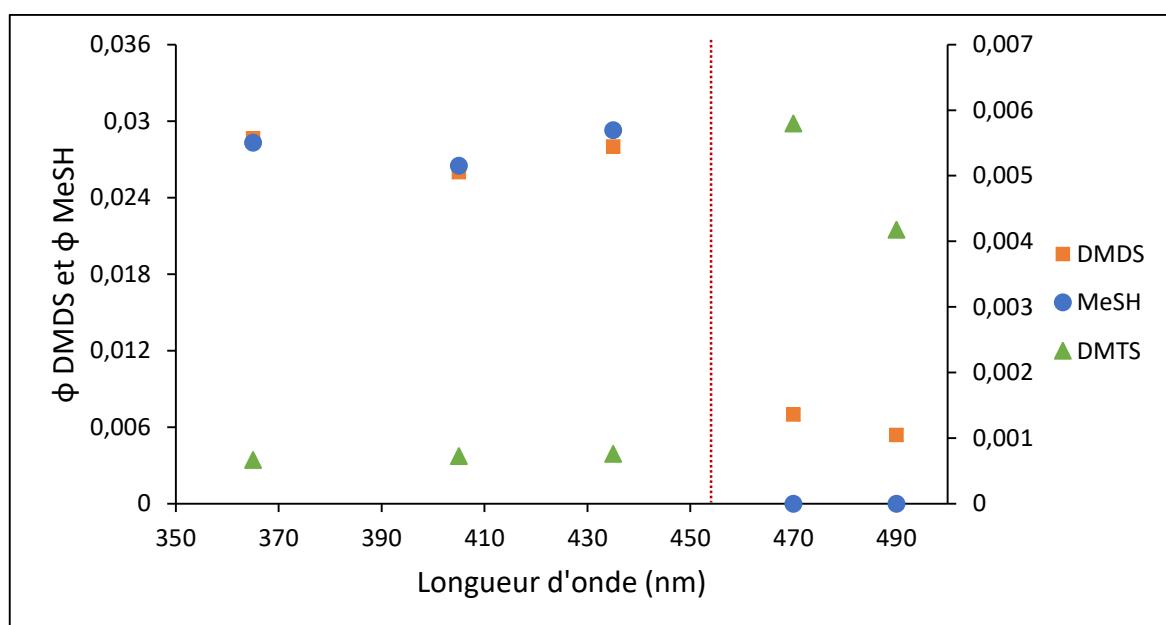


Figure 3.1 : Variation du rendement quantique de méthanethiol, DMDS et DMTS en fonction de la longueur d'onde d'irradiation en condition semi-anaérobie. Le trait en pointillé marque la différence du temps d'irradiation dans le protocole expérimental (45 min pour 470 et 490 nm). $[Rf] = 0,05$ mM et $[Met] = 0,1$ mM.

On observe deux types de comportements différents en fonction de la gamme de longueurs d'onde d'irradiation. Tout d'abord, sur la gamme de longueurs d'onde comprise entre 365 et 435 nm, le rendement quantique de MeSH, de DMDS et de DMTS est à peu près stable. En effet, il oscille autour de 0,027 pour le MeSH et le DMDS et autour de 7×10^{-4} pour le DMTS. Comme l'indique la figure 3.1, le méthaneéthiol et le DMDS sont les espèces majoritaires formées dans ces conditions d'irradiation. Pour les irradiations réalisées à 470 nm et 490 nm, une forte diminution de la formation de DMDS est observée (-75% pour 470 nm par rapport à 435 nm). Au contraire, la quantité de DMTS augmente (la valeur est 7 fois plus élevée pour 470 nm par rapport à 435 nm). Le rendement quantique de méthaneéthiol, quant à lui, n'a pas pu être mesuré car la concentration en méthaneéthiol dans l'échantillon était trop faible.

Le DMTS est formé en plus grande quantité pour les irradiations effectuées à 470 nm et 490 nm car les solutions ont été irradiées pendant 40 min au lieu de 15 min. En effet, la lampe xénon-mercure du banc optique a une intensité d'émission beaucoup plus faible à ces deux longueurs d'onde et il était donc nécessaire d'irradier les échantillons plus longtemps afin de pouvoir détecter le DMDS et le DMTS. La solution était alors en contact avec l'oxygène pendant plus longtemps et le DMDS a été oxydé en DMTS. Cela suggère que l'oxygène joue un rôle dans la formation du DMTS, comme cela avait été proposé par Nishibori & al.¹⁰¹ Les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles sont donc globalement indépendants de la longueur d'onde d'irradiation entre 365 et 440 nm.

3.3 Influence de l'oxygène sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles

3.3.1 Introduction

L'oxygène est un paramètre important à prendre en compte lorsque la formation des espèces soufrées volatiles est étudiée. En effet, en fonction des conditions d'irradiation et du taux en oxygène présent dans l'échantillon, le méthaneéthiol, le DMDS et le DMTS ne vont pas être formés dans les mêmes proportions. Comme cela a été expliqué dans le chapitre 1, il

existe deux types de mécanismes en fonction de la quantité en oxygène présente dans la solution irradiée (Schéma 1.5, page 12).²⁸

Pour des milieux riches en oxygène, la riboflavine à l'état triplet réagit préférentiellement avec l'oxygène à l'état fondamental (mécanisme de type II) et elle est donc moins réactive vis-à-vis de l'oxydation de la méthionine.^{63,129,130} Les concentrations en espèces sulfurées volatiles formées devraient alors être plus faibles. De plus, l'oxygène singulet peut oxyder la méthionine en méthionine sulfoxyde stable qui ne mène pas à la formation de produits sulfurés volatiles.^{131,132} Pour des milieux pauvres en oxygène, la riboflavine à l'état triplet oxyde préférentiellement la méthionine par un transfert d'électron pour former le radical cation de la méthionine et le radical anion de la riboflavine. En 2019, Fracassetti & al. ont confirmé ces hypothèses en irradiant des solutions modèles dans des milieux pauvres en oxygène d'une part et riches en oxygène d'une autre part.⁶³ Ainsi, les auteurs ont mesuré des concentrations en méthanethiol et DMTS 6 fois plus élevées et des concentrations en DMDS 86 fois plus élevées en conditions anoxiques (taux d'oxygène dissous inférieur à 0,2 mg/L) par rapport à des conditions oxiques (solutions non purgées). La concentration en oxygène dissous dans les solutions irradiées contenant de la riboflavine et de la méthionine jouerait donc un rôle prépondérant dans la formation des espèces sulfurées volatiles.

3.3.2 Suivi cinétique de formation des espèces sulfurées volatiles en absence totale d'oxygène et à l'abri de la lumière

Comme cela a été montré dans le paragraphe précédent, l'oxygène joue un rôle important dans la formation des espèces sulfurées volatiles. Il est donc intéressant de déterminer quels composés sont formés en absence totale d'oxygène. Pour cela, une solution contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM ainsi que la méthionine à une concentration de 0,1 mM a été préalablement purgée pendant 45 min et a été gardée sous atmosphère d'argon. La solution a ensuite été irradiée à 435 nm pendant 15 min avec le banc optique. La concentration en riboflavine a été multipliée par un facteur 5 par rapport à l'étude sur l'influence de la longueur d'onde d'irradiation afin de pouvoir irradier des solutions en absence d'oxygène tout en gardant un taux de riboflavine oxydé important. La cuve était dans un premier temps gardée sous atmosphère inerte et dans l'obscurité après irradiation. Après deux analyses à $t = 0$ et $t = 16$ h, la cuve a été ouverte à l'oxygène ($t = 17$ h) et des analyses

supplémentaires ont été réalisées. Avec cette expérience, nous souhaitons déterminer dans un premier temps l'évolution du rendement de formation des espèces soufrées volatiles en absence totale d'oxygène. Puis, dans un second temps, nous souhaitons déterminer l'effet de l'ajout d'oxygène dans le milieu longtemps après que l'échantillon ait été irradié. Les résultats sont présentés sur la Figure 3.2.

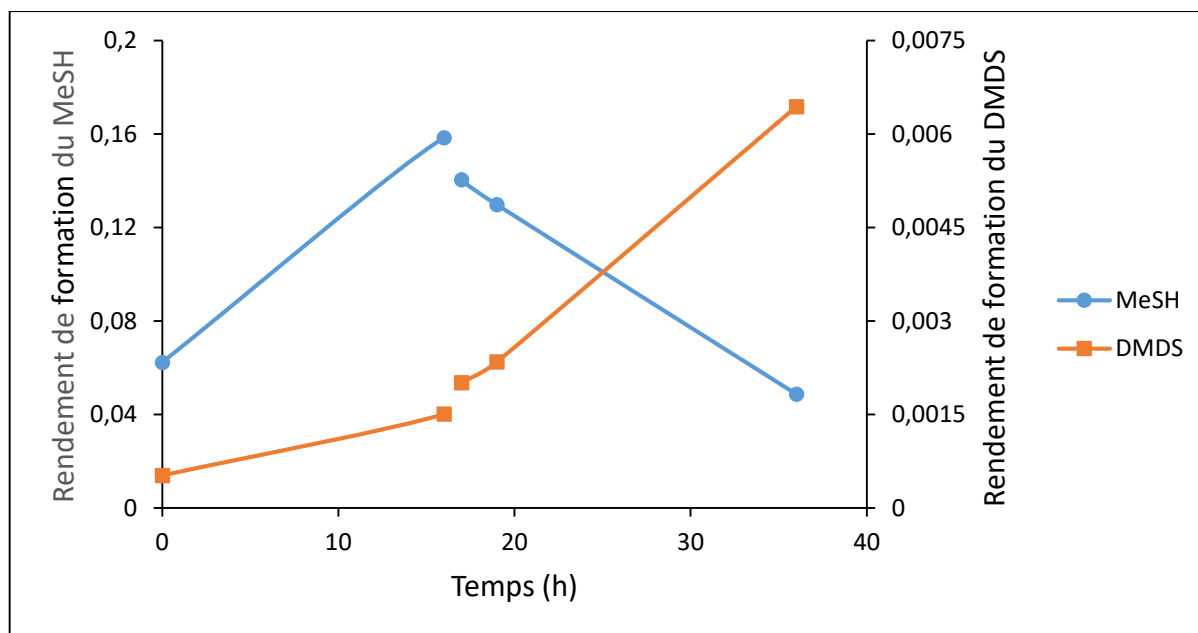


Figure 3.2 : Rendements de formation du méthaneithiol et du DMDS avant ouverture à l'oxygène de la cuve (entre $t=0$ et $t=16h$) puis après ouverture à l'oxygène de la cuve (entre $t=17h$ et $t=36h$). Irradiation à 435 nm pendant 15 min. $[Rf] = 0,25$ mM et $[Met] = 0,1$ mM.

Tout d'abord, malgré l'absence d'oxygène, le DMDS est formé dans l'échantillon. Cela suggère que le DMDS peut être formé en l'absence d'oxygène et qu'il ne provient pas exclusivement de l'oxydation directe du méthaneithiol. Ce résultat est en accord avec le mécanisme proposé dans le chapitre 2, c'est-à-dire l'existence d'une voie de formation alternative à l'oxydation du MeSH pour former le DMDS. De plus, les rendements de formation du méthaneithiol et de DMDS augmentent entre $t = 0$ et $t = 16h$. Cela signifie que la formation de méthaneithiol et de DMDS continue dans le noir après irradiation. Après ouverture de la cuve à l'oxygène, le rendement de formation du méthaneithiol diminue et celui du DMDS augmente. Il s'agit simplement d'une oxydation du méthaneithiol en DMDS en présence d'oxygène. Lors de cette expérience, aucun pic correspondant au DMTS n'a été observé pour les injections réalisées en absence d'oxygène (entre $t = 0$ et $t = 16h$). Lors de l'ouverture de la cuve à l'oxygène, une faible concentration de $0,2 \mu\text{M}$ en DMTS a été mesurée. Cela prouve

que le DMTS est forcément issu d'une réaction impliquant de l'oxygène, du méthane-thiol et du DMDS. La formation de peroxyde d'hydrogène pourrait permettre d'expliquer l'augmentation des concentrations en espèces sulfurées volatiles au cours du temps. Cependant, celui-ci n'est formé qu'au contact de la riboflavine à l'état réduit avec l'oxygène et l'augmentation des rendements de formation du méthane-thiol et du DMDS a été observée en l'absence d'oxygène.

Afin de déterminer le rôle du peroxyde d'hydrogène dans l'augmentation de la concentration en espèces sulfurées volatiles au cours du temps après irradiation, des échantillons dans lesquels du pyruvate de sodium a été ajouté après irradiation ont été analysés. Dans ce cas, les échantillons ont été ouverts à l'air après irradiation afin de former du peroxyde d'hydrogène. Le pyruvate de sodium réagit avec le H_2O_2 et permet de diminuer sa concentration. Les échantillons obtenus ont ensuite été analysés à $t = 0$ et $t = 24h$. Les résultats sont présentés dans le Tableau 3.1.

	Sans pyruvate	Pyruvate 0,1 M	Pyruvate 0,25 M
$t = 0$			
ϕ MeSH	0,053	0,029	0,017
ϕ DMDS	0,0049	0,0067	0,0068
ϕ DMTS	0,0011	$6,1 \times 10^{-4}$	$5,1 \times 10^{-4}$
$t = 24h$			
ϕ MeSH	0,10 (+88%)	0,042 (+44%)	0,03 (+75%)
ϕ DMDS	0,0070 (+58%)	0,0068 (+2%)	0,0076 (+11%)
ϕ DMTS	0,0023 (+126%)	0,0012 (+100%)	0,0014 (+102%)

Tableau 3.1 : Rendements quantiques des espèces sulfurées volatiles après ajout de pyruvate de sodium à $t=0$ et $t=24h$.

Entre $t = 0$ et $t = 24h$, une forte diminution du rendement de formation de DMDS est observée lorsque le pyruvate de sodium est ajouté. (+58% sans pyruvate, +2% avec 0,1 M de pyruvate et +11% avec 0,25 M de pyruvate). Pour le DMTS et le méthane-thiol, on observe également une baisse du rendement de formation lorsque du pyruvate de sodium est ajouté après irradiation mais elle est cette fois moins marquée (+88% sans pyruvate, + 44% avec 0,1 M de pyruvate et +75% avec 0,25 M de pyruvate). D'après ces résultats, le peroxyde d'hydrogène joue un rôle dans l'augmentation de la concentration des espèces sulfurées

volatiles dans le noir après irradiation, principalement pour le DMDS. Cependant, il n'explique pas totalement ce phénomène car le méthane-thiol et le DMTS continuent à être formés après irradiation même lorsque le pyruvate de sodium est ajouté.

3.3.3 Suivi cinétique de formation des espèces sulfurées volatiles en conditions aérobie et anaérobie

Comme cela a été montré dans le chapitre 2, des solutions purgées mais en contact avec l'air pendant l'irradiation mènent à la formation d'une grande quantité d'espèces sulfurées volatiles du fait de la possibilité de réoxyder la riboflavine. Cependant, des solutions saturées en oxygène devraient mener à la formation d'une faible quantité d'espèces sulfurées volatiles.⁶³ En effet, un mécanisme de type I dans lequel de l'oxygène singulet est formé est favorisé dans ce cas. L'oxygène singulet oxyde alors la méthionine en méthionine sulfoxyde et autres composés d'oxydation.¹³¹ Afin de vérifier cette hypothèse, un suivi cinétique en irradiant à 435 nm une solution modèle contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM et la méthionine à une concentration de 0,1 mM a été réalisé. Les résultats sont présentés sur la Figure 3.3. Le rendement quantique exprimé en ordonnées correspond à la somme des rendements quantiques de méthane-thiol, DMDS et DMTS avec un coefficient appliqué correspondant au nombre d'atomes de soufre présents dans chaque composé.

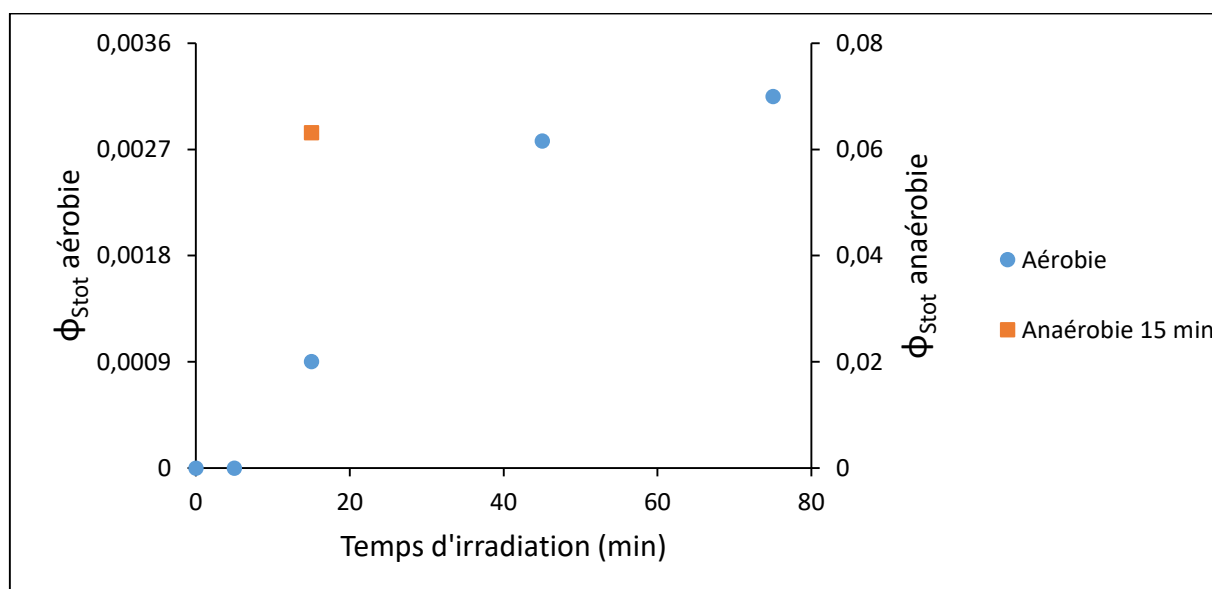


Figure 3.3 : Rendements quantiques du soufre total formé en utilisant des solutions non-purgées (en bleu) et en utilisant des solutions purgées (en orange). Irradiation à 435 nm. [Rf] = 0,25 mM et [Met] = 0,1 mM.

Afin de pouvoir comparer les conditions aérobie et anaérobie, le carré orange dans ce graphique correspond à une irradiation de 15 min avec les mêmes concentrations en méthionine et riboflavine mais en condition anaérobie. Le soufre total formé est 70 fois plus élevé en condition anaérobie qu'en condition aérobie. Cela signifie que la méthionine est peu dégradée en espèces soufrées volatiles lorsque les solutions ne sont pas purgées. En effet, le mécanisme de type II est prépondérant et l'oxygène singulet est l'espèce majoritairement formée. Une faible quantité de DMDS et DMTS est formée mais un plateau au-delà de 75 min d'irradiation semble être atteint. Cela suggère que la méthionine présente dans les échantillons a été oxydée en méthionine sulfoxyde ou a été dégradée en espèces soufrées volatiles au bout de 75 min.

Lors de cette expérience, le méthanethiol n'a pas été détecté. La proportion de DMDS varie entre 87% et 53% du soufre total et la proportion de DMTS varie entre 13% et 47% du soufre total. Plus l'échantillon est irradié longtemps et plus la proportion de DMTS augmente. Ces résultats confirment que le DMTS est une espèce formée après le méthanethiol et le DMDS et qu'elle est dépendante de la présence d'oxygène.

Afin d'évaluer l'influence du temps d'irradiation en conditions anaérobies, des échantillons purgés ont été irradiés à 435 nm pendant différents temps en utilisant un nouvel échantillon pour chaque temps d'irradiation. En effet, nous souhaitons que les irradiations se fassent en absence d'oxygène et nous ne pouvons donc pas réutiliser le même échantillon après analyse. Avec cette expérience, nous souhaitons déterminer si le rendement quantique est constant en fonction du temps d'irradiation. Les résultats sont présentés sur la Figure 3.4. Le méthanethiol compte pour environ 80% du soufre total mesuré pour chaque échantillon analysé.

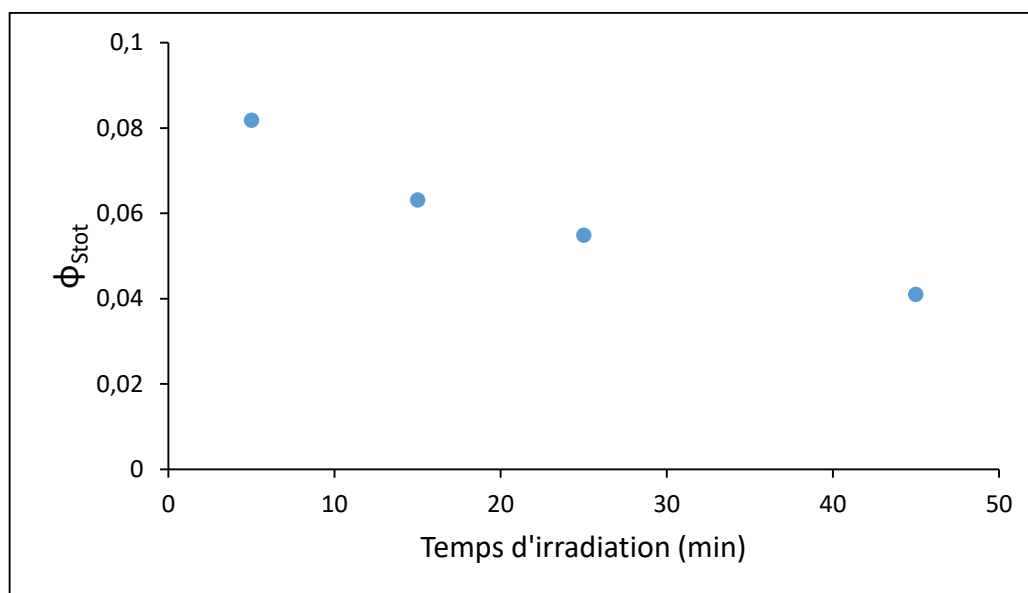


Figure 3.4 : Rendements quantiques du soufre total formé en fonction du temps d'irradiation à 435 nm sur des échantillons différents en condition anaérobie. [Rf] = 0,25 mM et [Met] = 0,1 mM.

Une diminution du rendement quantique de soufre total formé est observée lorsque le temps d'irradiation augmente. La dégradation de la méthionine n'est donc pas linéaire en fonction du temps d'irradiation. En effet, si c'était le cas, un rendement quantique constant serait obtenu. Ce résultat suggère que l'appauvrissement en méthionine dans le milieu entraîne une baisse de l'efficacité de la réaction. Lors des irradiations, l'absorbance de la solution varie peu car la riboflavine est présente à forte concentration. Il s'agit donc probablement d'un phénomène lié à l'appauvrissement en méthionine dans la solution. Ces résultats rejoignent ceux présentés dans le chapitre 2. La concentration en méthionine a une forte influence sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles.

3.4 Influence de l'ajout de sulfites et de sucres sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles

3.4.1 Introduction

Les sucres et les sulfites sont des composés présents à une concentration importante dans les vins et les Champagnes et ils peuvent donc influencer les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles (entre 3 et plus de 50 g/L pour les sucres⁴⁷ et entre 20 et 185 mg/L

pour les sulfites⁴⁶ dans le Champagne). Les sulfites peuvent réagir avec les sucres sous forme ouverte par un mécanisme d'addition nucléophile.⁶⁵ Cependant, au pH du vin et du Champagne, cette réaction n'est pas favorisée. Des études de Fracassetti & al. ont montré que les sulfites, même à faible concentration, peuvent accélérer la dégradation de la méthionine lors de l'exposition de solutions modèles à la lumière en condition semi-anaérobie.⁶³ En effet, les sulfites réagissent indirectement avec l'oxygène ce qui privilégie un mécanisme de type I dans lequel la méthionine est oxydée par la riboflavine. Cependant, lorsque de l'oxygène est présent dans le milieu réactionnel, la réaction des sulfites avec l'anion superoxyde entraîne la formation de radicaux hydroxyles.¹³² Ces espèces réagissent ensuite avec le radical cation de la méthionine pour former la méthionine sulfoxyde, ce qui entraîne une diminution de la concentration en méthionine dans l'échantillon irradié ainsi qu'une diminution des concentrations en espèces soufrées volatiles formées (Schéma 3.1).

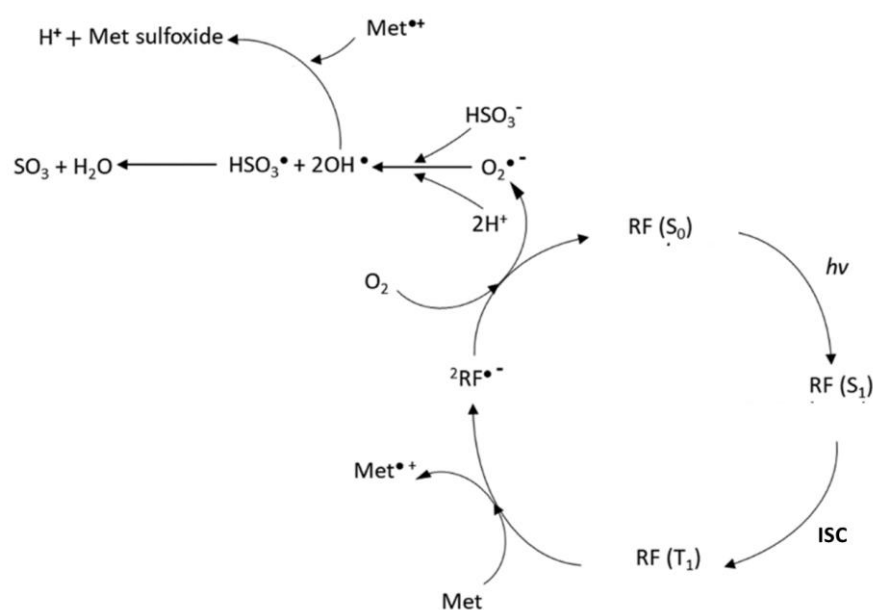


Schéma 3.1 : Mécanisme de type I en présence de sulfites menant à la formation de méthionine sulfoxyde.¹³² Reproduit avec permission.

Lors de l'irradiation de solutions modèles, les sulfites exerceraient donc une action pro-oxydante sur la méthionine. Les auteurs n'ont pas observé de dégradation du profil sensoriel des vins synthétiques suite à l'ajout de sulfites. Cela suggère que les sulfites réagissent avec le méthanethiol pour former le méthanethiosulfonate et que la méthionine est préférentiellement oxydée en méthionine sulfoxyde. La méthionine réagit alors moins

efficacement avec le triplet de la riboflavine et moins d'espèces soufrées volatiles sont formées. D'autre part, il a été observé que l'ajout d'un mélange bisulfite de sodium / sucre à des solutions modèles purgées avec de l'argon permet de diminuer les concentrations en espèces soufrées volatiles formées.⁶⁶

Le pH de la solution a une forte influence sur les équilibres de formation des sulfites.⁴⁸ En effet, les sulfites sont en équilibre dans les vins sous plusieurs formes. Tout d'abord, il faut distinguer les sulfites libres des sulfites combinés (Schéma 3.2).

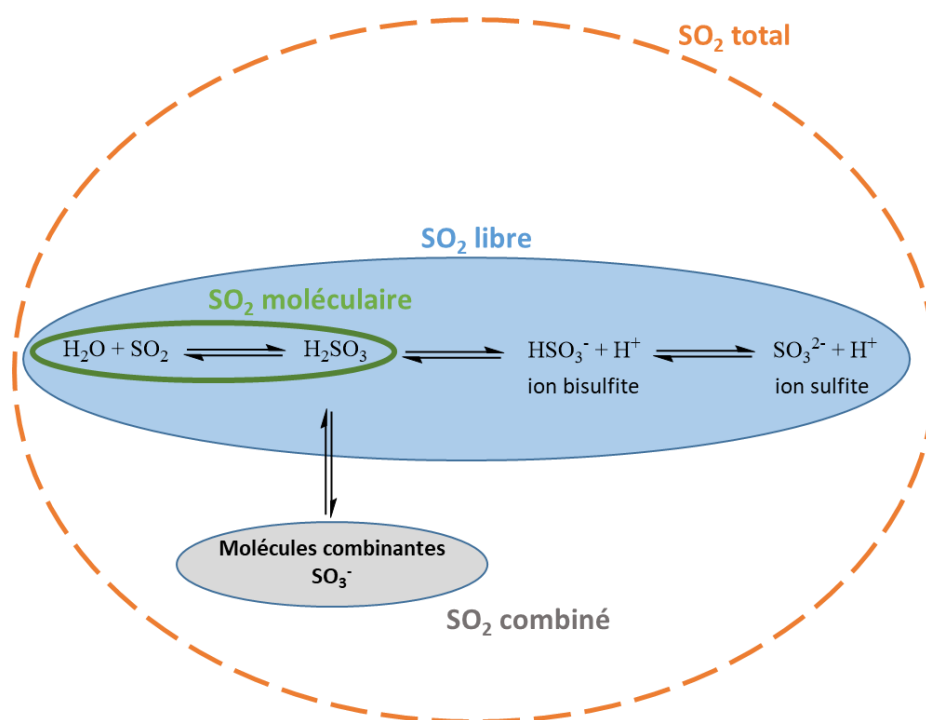
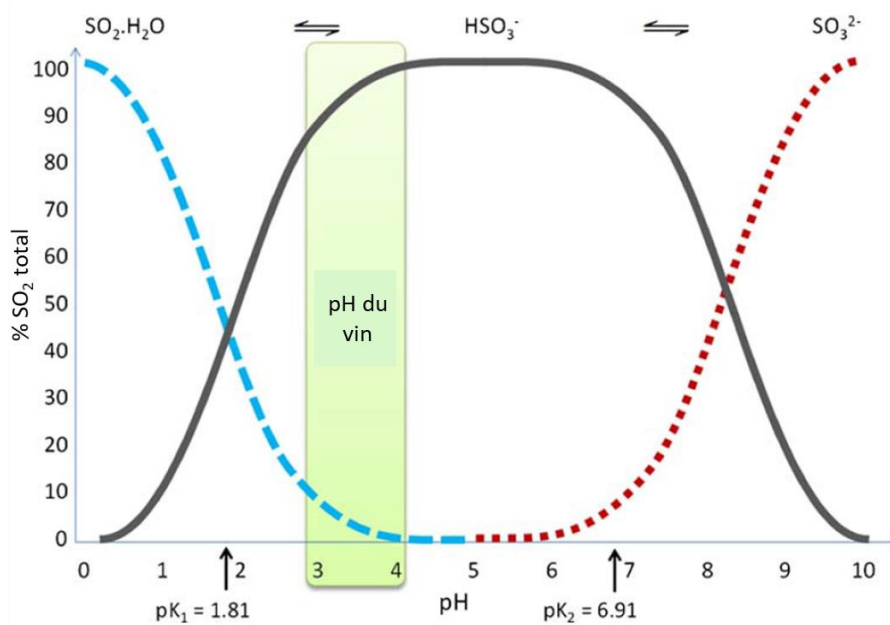


Schéma 3.2 : Schéma explicatif des formes de sulfites coexistantes dans les vins.

Les sulfites combinés sont des sulfites liés avec d'autres composés présents dans les vins tels que les sucres et les aldéhydes et qui n'ont donc pas d'effet antioxydant. Les sulfites libres regroupent les ions bisulfites (HSO_3^-), les ions sulfites (SO_3^{2-}) et le SO_2 moléculaire.⁴⁸ Ce sont les sulfites libres qui vont exercer un pouvoir antioxydant sur le vin. Parmi les sulfites libres, le SO_2 moléculaire est l'espèce qui protège le mieux les vins et les Champagnes. Il peut réagir avec le peroxyde d'hydrogène et les *o*-quinones qui sont les molécules responsables de l'oxydation des composés du vin.¹³³ Les ions sulfites HSO_3^- peuvent également réagir avec des espèces oxydatives telles que l'anion superoxyde.¹³² Comme cela est indiqué dans la Figure 3.5, la concentration en SO_2 moléculaire diminue lorsque la valeur du pH augmente sur la

gamme de pH correspondant aux vins et aux Champagnes (pH compris entre 3 et 4). Pour une même concentration en sulfites ajoutés, un pH de 3 permet de former plus de SO_2 moléculaire et le produit devrait donc être mieux protégé des espèces oxydantes.



*Figure 3.5 : Formes prédominantes des sulfites libres en fonction du pH de la solution. pK_1 est la constante de dissociation de l'équilibre entre $\text{SO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ et HSO_3^- et pK_2 est celle de l'équilibre entre HSO_3^- et SO_3^{2-} .¹³⁴
Reproduit avec permission.*

3.4.2 Impact de la concentration en sulfites sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles en présence de sucres

Les sulfites peuvent indirectement réagir avec l'oxygène dans les vins. Cependant, dans les solutions modèles, les sulfites seraient des pro-oxydants car ils oxydent la méthionine en méthionine sulfoxyde. Il est donc intéressant de déterminer si l'ajout de sulfites entraîne une diminution des espèces soufrées volatiles formées en condition anaérobie. Ainsi, l'influence de la concentration en sulfites sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles a été étudiée. Des solutions modèles préalablement purgées contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM, la méthionine à une concentration de 0,1 mM, des sucres à 3 g/L, ainsi que des concentrations variables en sulfites ont été irradiées à 435 nm. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 3.6.

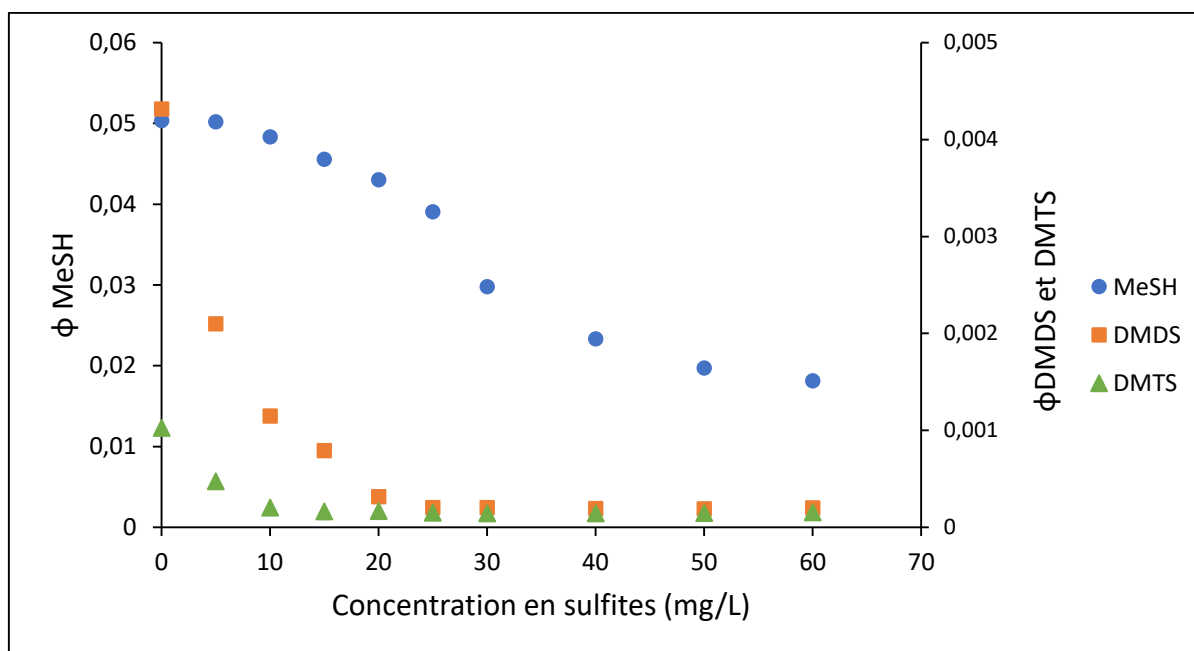


Figure 3.6 : Influence de la concentration en sulfites sur les rendements quantiques des espèces sulfurées volatiles en présence de 3 g/L de sucres. Irradiation à 435 nm pendant 15 min en condition anaérobie. $[Rf] = 0,25 \text{ mM}$ et $[Met] = 0,1 \text{ mM}$.

Ces résultats indiquent que les rendements quantiques diminuent pour les trois espèces sulfurées volatiles lorsque la concentration en sulfites présente dans l'échantillon augmente. Pour le DMTS, le rendement quantique ne varie plus à partir d'une concentration en sulfites de 15 mg/L environ. Il semble exister une valeur seuil en dessous de laquelle le rendement quantique ne diminue plus. Il n'est donc pas possible d'inhiber totalement la formation de DMTS. Pour le DMDS, dès l'ajout de 5 mg/L de sulfites, une baisse conséquente du rendement quantique est observée (il est divisé par deux environ). Lorsque la concentration en sulfites dans l'échantillon augmente, une valeur seuil de rendement quantique est également atteinte pour 25 mg/L de sulfites environ. Cette forte baisse du rendement quantique de DMDS à partir d'une concentration de 5 mg/L en sulfites dans l'échantillon peut s'expliquer par la réaction du SO_2 avec le peroxyde d'hydrogène formé lors de l'ouverture des cuves à l'oxygène avant analyse. Enfin, pour le méthane-thiol, le rendement quantique diminue mais seulement à partir d'une concentration de 10 mg/L en sulfites dans l'échantillon. Cela suggère que la majorité du méthane-thiol n'est pas oxydé en DMDS lors de l'ouverture de la cuve à l'oxygène et la concentration en méthane-thiol formée reste donc stable. Lorsqu'une quantité de sulfites plus importante est ajoutée, le rendement quantique diminue néanmoins de manière conséquente (il est divisé par plus de deux entre 10 mg/L et

40 mg/L de sulfites). Une valeur seuil semble atteinte à partir d'une concentration de 60 mg/L en sulfites dans l'échantillon, comme pour le DMDS et le DMTS. Dans les solutions modèles, l'ajout de sulfites permet donc de diminuer les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles.

Afin de déterminer si les espèces soufrées volatiles formées à une concentration de 60 mg/L de sulfites ajoutés ne sont pas issues d'une réaction dans laquelle la lumière n'est pas impliquée, une mesure avec un témoin (échantillon non irradié) a été réalisée. L'analyse par SPME-GC-PFPD du témoin n'a mis en évidence aucune trace de méthanethiol, DMDS ou DMTS. Les sulfites ne permettent donc pas d'empêcher totalement la formation des espèces soufrées volatiles. Afin de mieux visualiser le phénomène observé, le rendement quantique du soufre total formé peut être tracé en fonction de la concentration en sulfites présents dans l'échantillon (Figure 3.7). Pour rappel, le rendement quantique du soufre total correspond à la somme des rendements quantiques de MeSH, de DMDS et de DMTS pondérés par un coefficient correspondant au nombre d'atomes de soufre présents dans la molécule.

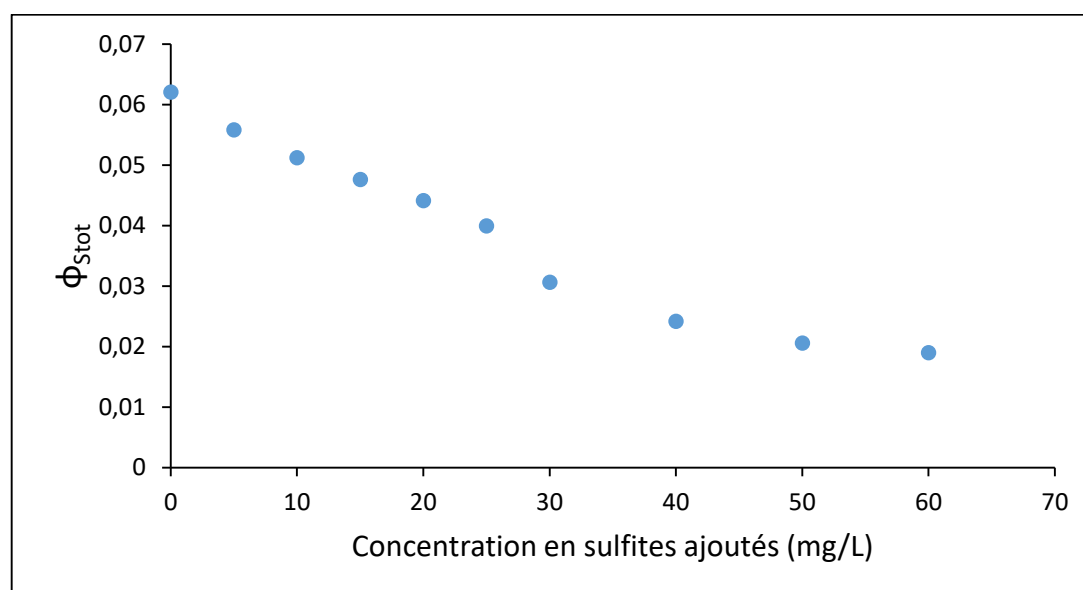


Figure 3.7 : Rendements quantiques du soufre total formé en fonction de la concentration en sulfites ajoutés. Irradiation à 435 nm pendant 15 min en condition anaérobie. $[Rf] = 0,25 \text{ mM}$ et $[Met] = 0,1 \text{ mM}$.

Les sulfites permettent de réduire le soufre total formé dans les solutions modèles de 2/3 environ au maximum. Cette étude indique donc que les sulfites ne permettent pas d'inhiber totalement la formation des espèces soufrées volatiles. La baisse des rendements quantiques observée peut être expliquée par le pouvoir antioxydant des sulfites. En effet, ces

derniers peuvent réagir avec le peroxyde d'hydrogène qui est formé lors de l'ouverture à l'oxygène des cuves. De plus, les sulfites peuvent réagir avec le méthane-thiol pour former le méthane-thiosulfonate et avec le radical cation de la méthionine pour former la méthionine sulfoxyde.⁶³

Cette étude a été réalisée en présence d'une concentration de 3 g/L de sucres. Afin d'évaluer l'influence des sucres dans cette étude, des irradiations en absence de sucres ont été réalisées. Les rendements quantiques obtenus sont très similaires à ceux obtenus en présence de 3 g/L de sucres (Tableau 3.2). Une légère baisse du soufre total (moins de 5%) est observée lorsqu'ils ne sont pas présents. Cette baisse peut s'expliquer par la formation de complexes sucres-sulfites qui empêchent les sulfites d'exercer leur activité anti-oxydante. A cette concentration, le phénomène n'est cependant pas très marqué. Les sucres à une concentration de 3 g/L ne semblent donc pas avoir une forte influence sur la formation des espèces soufrées volatiles.

	Sulfites 10 mg/L	Sulfites 30 mg/L
Avec sucres (3 g/L)	$\phi_{\text{Stot}} = 0,053$	$\phi_{\text{Stot}} = 0,032$
Sans sucres	$\phi_{\text{Stot}} = 0,051$	$\phi_{\text{Stot}} = 0,031$

Tableau 3.2 : Rendements quantiques associés au soufre total formé en fonction de la concentration en sucres dans l'échantillon. Irradiation à 435 nm en condition anaérobie pendant 15 min. [Rf] = 0,25 mM et [Met] = 0,1 mM.

3.4.3 Impact de la concentration en sucres sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles en présence de sulfites

Les sucres sont évoqués dans la littérature comme étant des espèces pouvant apporter une protection partielle aux vins et aux Champagnes face à l'apparition du goût de lumière lorsqu'ils sont présents à une concentration supérieure à 15 g/L.⁸⁹ En effet, ils ralentiraient la dégradation de la riboflavine lors de l'exposition du Champagne à la lumière (Figure 3.8).

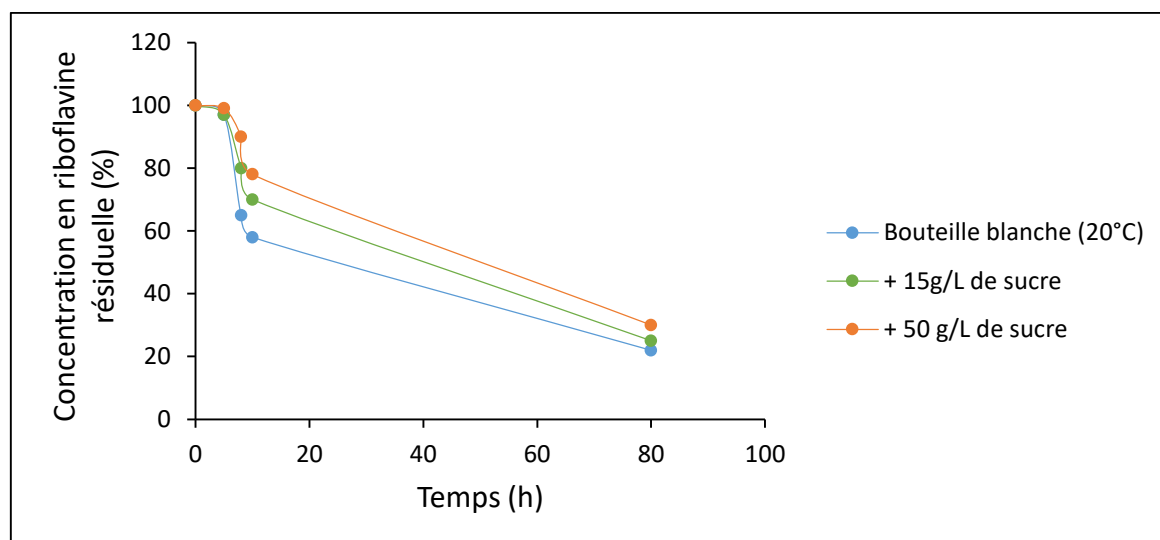


Figure 3.8 : Influence de l'ajout de sucres sur la concentration en riboflavine résiduelle après exposition de la bouteille à la lumière.⁸⁹ Reproduit avec permission.

Afin de déterminer si les sucres peuvent avoir une influence sur le rendement quantique des espèces sulfurées volatiles, des irradiations à 435 nm ont été réalisées avec des solutions préalablement purgées contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM, la méthionine à une concentration de 0,1 mM, des sulfites à une concentration de 10 mg/L et des concentrations variables en sucres. Des sulfites ont été ajoutés lors de cette étude afin de se rapprocher des conditions réelles existantes dans les vins et de tenir compte des éventuelles interactions pouvant exister entre les sucres et les sulfites. Le méthanthiol représente 94% du soufre total formé dans cette étude (Figure 3.9).

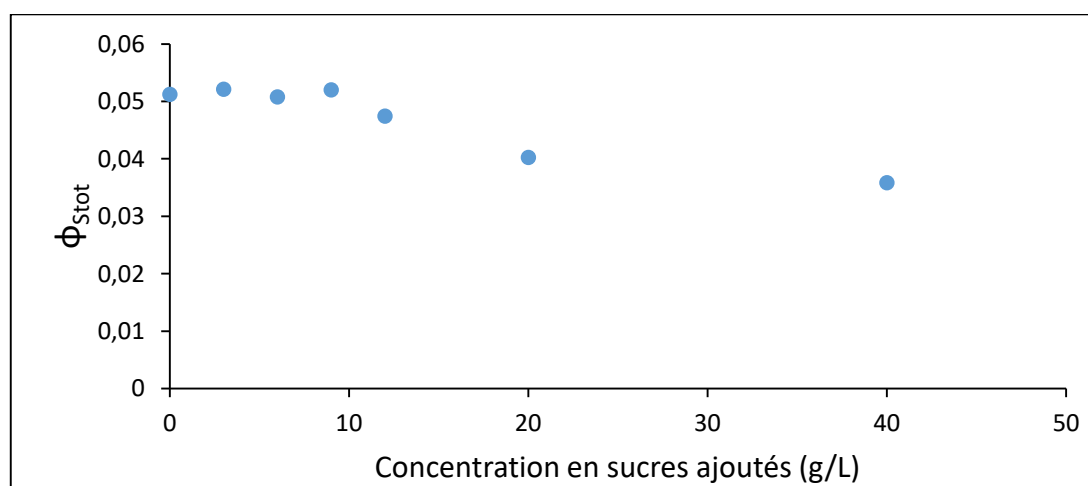


Figure 3.9 : Rendements quantiques du soufre total formé en fonction de la concentration en sucres ajoutés en présence de 10 mg/L de sulfites. Irradiation à 435 nm pendant 15 min en condition anaérobie. [Rf] = 0,25 mM et [Met] = 0,1 mM.

Une très légère augmentation du soufre total formé est observée entre 0 et 3 g/L de sucres ajoutés mais cette hausse n'est pas significative étant donné les incertitudes sur la méthode de dosage. Pour une concentration en sucres comprise entre 3 et 9 g/L, la quantité de soufre total est à peu près stable. Cela peut s'expliquer par la formation de complexes sucres – sulfites qui inhibent l'action protectrice de ces deux composés. Cependant, à partir de 12 g/L de sucres ajoutés, une diminution du soufre total formé est observée. Ainsi, pour 40 g/L de sucres ajoutés, une réduction de l'ordre de 25% du soufre total formé est observée. Les sucres à haute concentration permettent donc de diminuer les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles ce qui est en accord avec la littérature.⁸⁹ La méthionine serait donc dégradée plus lentement lorsque du sucre à une concentration de 40 g/L est ajouté aux échantillons.

3.4.4 Influence du pH de la solution sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles en présence de sulfites

Le pH a une forte influence sur la dégradation de la riboflavine. En effet, la riboflavine à l'état fondamental possède deux pKa, un autour de 0 et l'autre autour de 10.¹¹⁶ Cependant, sur la gamme de pH du vin (entre 3 et 4), le pH ne devrait pas avoir d'influence sur l'absorption de la lumière par la riboflavine. De plus, à pH acide et après absorption de lumière, la riboflavine est principalement dégradée en lumichrome.⁸⁵

Comme cela a été présenté dans la partie 3.4.1, les sulfites sont présents sous plusieurs formes en fonction du pH de la solution étudiée. Il est donc intéressant d'étudier l'influence du pH sur la formation des espèces soufrées volatiles en présence de sulfites. Pour cela, des solutions modèles préalablement purgées contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM, la méthionine à une concentration de 0,1 mM et des sulfites à une concentration de 10 mg/L ont été préparées à des pH compris entre 3 et 4. Les solutions ont ensuite été irradiées à 435 nm avec le banc optique et les résultats sont présentés dans la Figure 3.10. Pour cette expérience, 92% du soufre total formé correspond au méthaneéthiol.

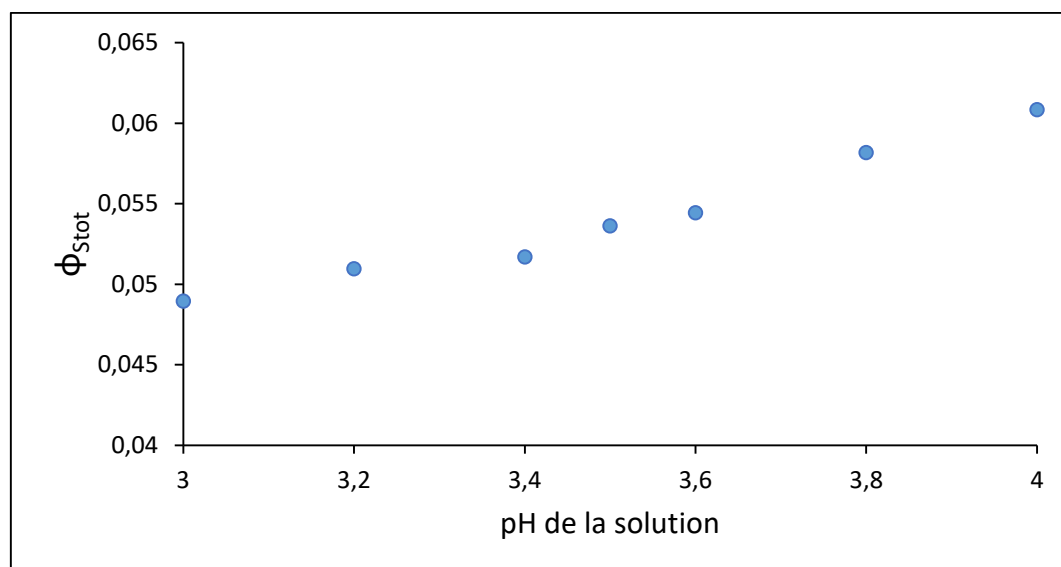


Figure 3.10 : Rendements quantiques du soufre total formé en fonction du pH de la solution en présence de 10 mg/L de sulfites. Irradiation à 435 nm pendant 15 min en condition anaérobie. [Rf] = 0,25 mM et [Met] = 0,1 mM.

Ces résultats indiquent que le soufre total formé augmente lorsque la valeur du pH augmente. Ainsi, entre un pH de 3 et un pH de 4, le soufre total formé augmente de presque 25%. Cela peut s'expliquer par la concentration en SO_2 moléculaire plus importante qui est présente lorsque le pH de la solution est de 3. En effet, comme l'indique la Figure 3.6 dans l'introduction de cette partie, le SO_2 moléculaire est présent à hauteur de 10% à un pH de 3 contre seulement 1% à un pH de 4. Le SO_2 moléculaire réagit avec le peroxyde d'hydrogène formé lors de l'ouverture des échantillons à l'oxygène et permet de diminuer la quantité d'espèces sulfurées volatiles formées. De plus, le SO_2 moléculaire peut réagir avec le méthane-thiol pour former le méthane-thiosulfonate.⁶³ La concentration en espèces sulfurées volatiles formées dans les échantillons est donc plus faible pour les pH les plus acides.

3.5 Etude de la transformation de la riboflavine en absence d'oxygène

3.5.1 Introduction

Tout au long de ces études, il a été montré que l'oxygène joue un rôle majeur sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles lors de l'absorption de lumière par la riboflavine. En absence d'oxygène, une solution contenant une faible concentration de riboflavine devient progressivement incolore après exposition à la lumière. En effet, la riboflavine à l'état réduit incolore s'accumule et l'oxydation de la méthionine n'a plus lieu. Il est donc intéressant d'étudier la cinétique de dégradation de la riboflavine en présence de méthionine pendant l'irradiation. De plus, nous souhaitons déterminer si la riboflavine est réoxydée en absence totale d'oxygène. Pour cela, des cuves dégazées par un protocole de gel-dégel ont été scellées, irradiées et des mesures d'absorbance de la solution ont été réalisées au cours du temps par spectroscopie UV-Vis. Pour cette expérience, deux cuves ont été dégazées, scellées et irradiées pendant des temps différents :

- La première a été irradiée jusqu'à avoir une absorbance minimale qui ne varie plus (obtention de riboflavine à l'état complètement réduit).
- La deuxième a été irradiée jusqu'à avoir une absorbance initiale divisée par deux environ.

Les solutions utilisées pour cette expérience contenaient de la riboflavine à une concentration de 0,05 mM, de la méthionine à une concentration de 0,1 mM et elles ont été irradiées à une longueur d'onde de 435 nm avec le banc optique. Les résultats obtenus pour les deux cas présentés ci-dessus sont détaillés dans la suite de cette partie.

3.5.2 Irradiation d'une solution contenant la riboflavine jusqu'à obtenir une absorbance minimale

Dans le premier cas, la solution a été irradiée afin d'atteindre une valeur d'absorbance minimale. Comme le montre la Figure 3.12, l'absorbance de la solution atteint un minimum à 0,08 à partir de 20 min d'irradiation. La plateau d'absorbance observé pourrait être dû à la formation du lumichrome, un photoproduit de la riboflavine. Ensuite, la riboflavine à l'état réduit est progressivement réoxydée au cours du temps. Cependant, cette transformation est

très longue puisqu'un maximum d'absorbance de 0,3 est obtenu après seulement un mois environ (Figure 3.11).

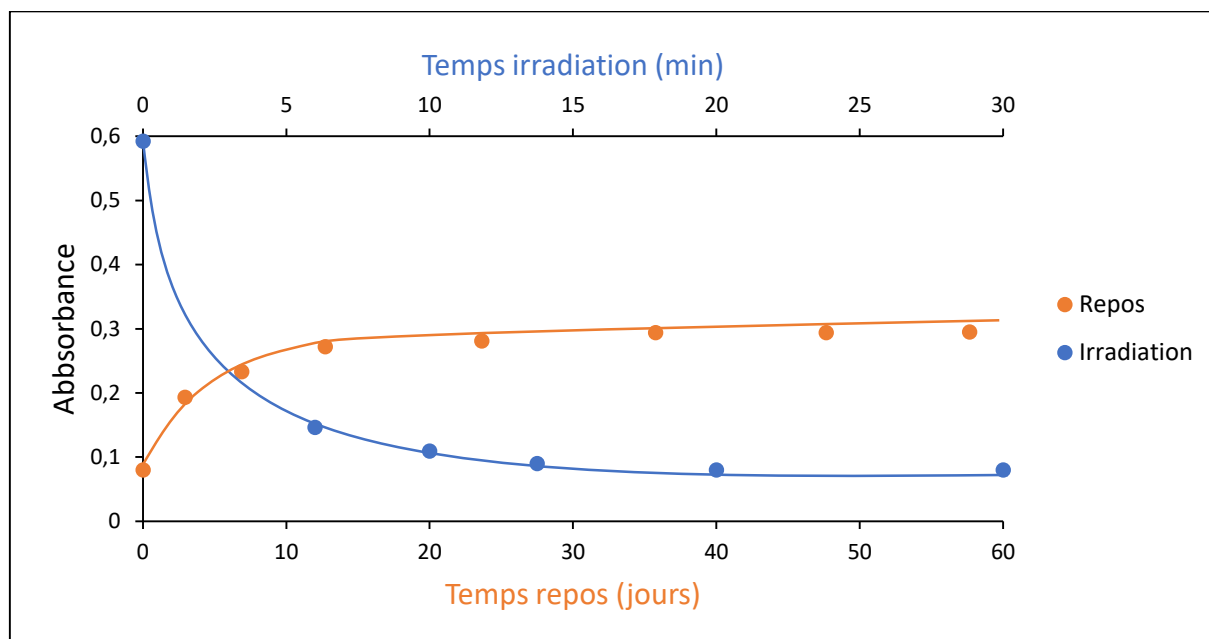


Figure 3.11 : Absorbance de la solution à 445 nm pendant l'irradiation à 435nm (en bleu) et après irradiation (en orange). $[Rf] = 0,05 \text{ mM}$ et $[Met] = 0,1 \text{ mM}$. Les lignes sont des guides pour les yeux.

La riboflavine récupère donc au maximum la moitié de son absorbance initiale (Figure 3.12). En effet, l'absorbance initiale était de 0,6 et une absorbance maximale de 0,3 a été obtenue.

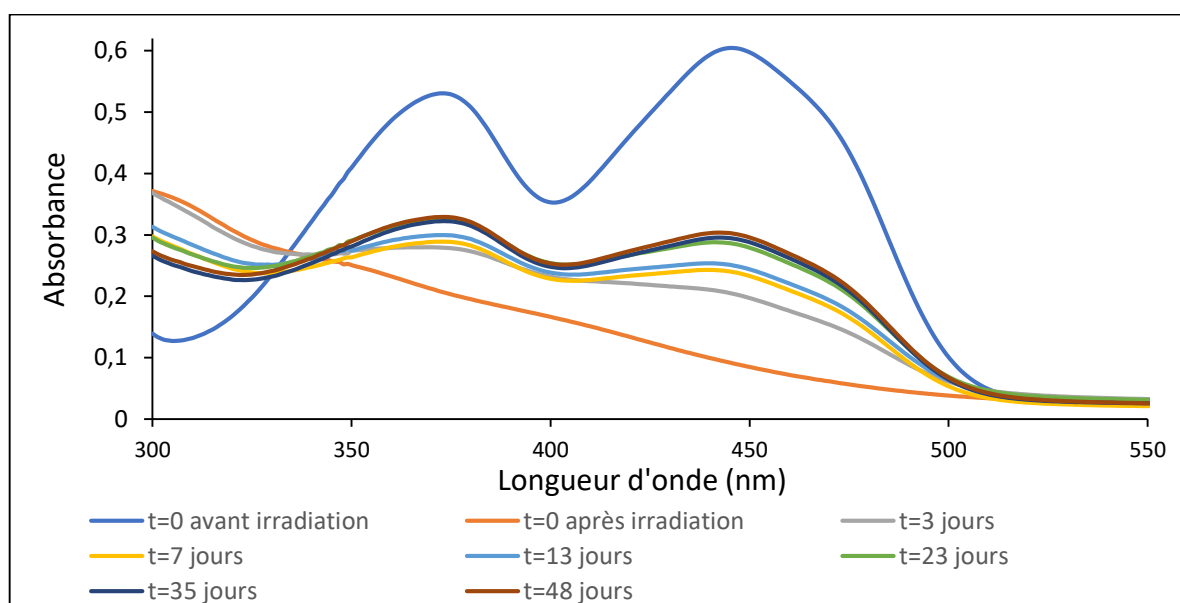


Figure 3.12 : Spectre d'absorption de la riboflavine au cours du temps en fonction de la longueur d'onde. $[Rf] = 0,05 \text{ mM}$ et $[Met] = 0,1 \text{ mM}$.

Ces résultats indiquent qu'en absence d'oxygène, la riboflavine est lentement réoxydée jusqu'à la moitié de son absorbance initiale. Cela peut s'expliquer par le fait que deux radicaux anions de la riboflavine peuvent réagir par une réaction de dismutation pour former une molécule de riboflavine oxydée (Schéma 3.3).

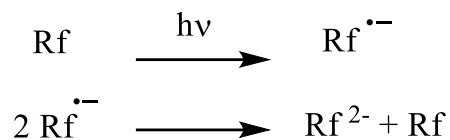


Schéma 3.3 : Réaction de dismutation du radical anion de la riboflavine.

Lors de l'ouverture des cuves en boîte à gants et l'analyse des espèces soufrées par SPME-GC-PFPD, le méthanethiol ($\phi = 8,1 \times 10^{-3}$) et le DMDS ($\phi = 2,7 \times 10^{-4}$) ont été détectés. Cela suggère que le DMDS a été formé en l'absence totale d'oxygène. Ce résultat est en accord avec le mécanisme proposé dans le chapitre 2, page 91. La formation du DMTS n'a pas été observée.

3.5.3 Irradiation d'une solution contenant la riboflavine jusqu'à obtenir une absorbance initiale divisée par deux

Pour cette expérience, la solution contenant la riboflavine et la méthionine a été irradiée afin que l'absorbance initiale soit divisée par deux. Nous souhaitons déterminer si les résultats obtenus dans la partie 3.5.2. étaient similaires dans ce cas. Comme l'indique la Figure 3.13, il suffit d'irradier la solution pendant 2,6 min afin d'obtenir une absorbance initiale qui est divisée par un peu plus de deux (0,57 jusqu'à 0,25). La diminution de l'absorbance de la solution pendant l'irradiation en absence d'oxygène se fait donc très rapidement. C'est pourquoi les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles obtenus en conditions anaérobies sont plus faibles que ceux obtenus en conditions semi-anaérobies. En effet, après seulement 2,5 min d'irradiation, la moitié de la riboflavine est à l'état réduit et la concentration en espèces soufrées volatiles formées diminue.

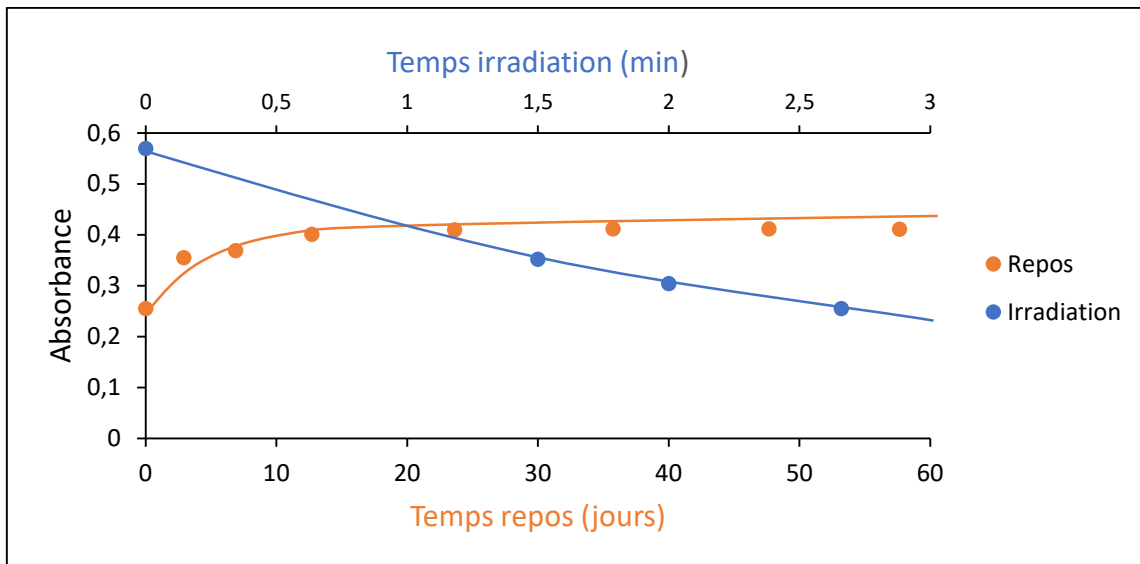


Figure 3.13 : Absorbance de la solution à 445 nm pendant l'irradiation à 435 nm (en bleu) et après irradiation (en orange). $[Rf] = 0,05 \text{ mM}$ et $[Met] = 0,1 \text{ mM}$. Les lignes sont des guides pour les yeux.

Comme pour l'expérience précédente, la riboflavine est lentement réoxydée jusqu'à atteindre un maximum égal à la moitié de l'absorbance qui a été perdue (Figure 3.14). En effet, un maximum d'absorbance à 0,41 est atteint après 18 jours de repos environ. Le temps nécessaire pour retrouver la moitié de l'absorbance perdue est deux fois moins important que pour l'expérience précédente. Le taux de riboflavine réoxydée par jour est donc le même pour les deux expériences.

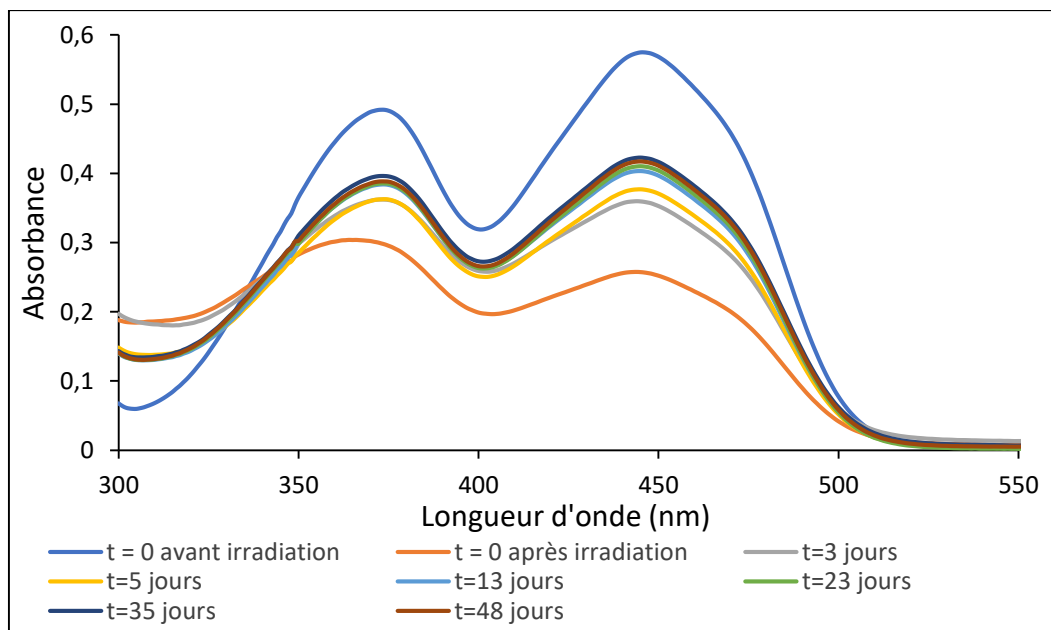


Figure 3.14 : Spectre d'absorption de la riboflavine au cours du temps en fonction de la longueur d'onde. $[Rf] = 0,05 \text{ mM}$ et $[Met] = 0,1 \text{ mM}$.

Lors de l'ouverture de cette cuve en boîte à gants, le méthane-thiol ($\phi = 4,93 \times 10^{-2}$) et le DMDS ($\phi = 1,99 \times 10^{-3}$) ont été détectés mais pas le DMTS. Les conclusions sont donc les mêmes que pour la partie 3.5.2.

3.6 Conclusion du chapitre 3

Plusieurs paramètres pouvant influencer la formation du goût de lumière dans les solutions modèles ont été étudiés. Tout d'abord, il a été montré que les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles sont constants sur une gamme de longueurs d'onde comprise entre 365 et 440 nm. De plus, l'oxygène joue un rôle fondamental sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles. En effet, lorsque les solutions sont saturées en oxygène, la riboflavine à l'état triplet réagit préférentiellement avec l'oxygène pour former l'oxygène singulet. Il oxyde alors la méthionine en méthionine sulfoxyde stable. La méthionine n'est donc plus dégradée en composés soufrés volatils. En absence d'oxygène, le soufre total formé correspond majoritairement au méthane-thiol et ce dernier est ensuite progressivement oxydé en DMDS et DMTS lorsque de l'oxygène est ajouté dans le milieu. De plus, il a été montré que la formation des produits soufrés volatiles continue dans le noir après irradiation. Le peroxyde d'hydrogène semble jouer un rôle dans ce processus mais d'autres espèces sont impliquées.

Les sucres et les sulfites ajoutés dans les solutions modèles ont une influence sur les concentrations en espèces soufrées volatiles formées après exposition à la lumière. En effet, les sucres protègent partiellement les solutions modèles de la formation du goût de lumière, mais seulement à concentration plus importante (plus de 12 g/L). Les sulfites permettent de diminuer le rendement quantique du soufre total formé d'environ 2/3 au maximum. Le processus de dégradation de la méthionine n'est donc pas totalement inhibé par l'ajout de sulfites. Le pH a également une forte influence sur l'action des sulfites. En effet, les concentrations en espèces soufrées volatiles formées sont plus faibles à un pH égal à 3 par rapport à un pH égal à 4. Cela s'explique par la plus forte teneur en SO_2 moléculaire présente dans les solutions à un pH égal à 3. Enfin, en absence d'oxygène, la riboflavine est lentement réoxydée après irradiation jusqu'à la moitié de l'absorbance perdue. Ce résultat suggère qu'un échantillon qui a déjà développé un goût de lumière suite à l'exposition à la lumière et dont la quantité de riboflavine résiduelle est faible sera de nouveau à risque un mois après.

Chapitre 4 : Protection des vins blancs et des Champagnes

4.1 Introduction

Dans le chapitre 1, les méthodes de protection physiques et chimiques utilisées afin de minimiser l'apparition du goût de lumière ont été présentées. Les protections physiques telles que l'utilisation de bouteilles en verre opaque permettent de protéger efficacement le produit de la lumière. L'utilisation de coffrets de protection ou de sur-emballages ne permet pas d'empêcher l'apparition du goût de lumière une fois qu'ils sont enlevés. Il est donc souhaitable d'améliorer la stabilité du produit. A ce jour, il n'existe pas de méthodes de protection de ce type pour prévenir la formation du goût de lumière dans l'industrie viticole. Certaines études ont montré que l'acide ascorbique³⁹ réagit avec le triplet de la riboflavine ou bien que l'utilisation de tanins galliques⁶³ permet de diminuer la quantité d'espèces soufrées volatiles formées, mais ces protections n'ont pas été évaluées sur des vins authentiques. Nous souhaitons donc développer une méthode de protection permettant de diminuer la photosensibilité des vins blancs et des Champagnes.

Les composés impliqués dans la formation du goût de lumière sont la riboflavine et la méthionine. Ainsi, en diminuant les concentrations de ces espèces, il serait possible de diminuer, voire empêcher, la formation des espèces soufrées volatiles issues de la dégradation de la méthionine. D'après une étude de Fracassetti & al., les vins blancs ayant une concentration en riboflavine inférieure à 50 µg/L et une concentration en méthionine inférieure à 1,5 mg/L ne développent pas de goût de lumière.⁶³ Les auteurs ont également montré l'efficacité du charbon actif pour diminuer la concentration en riboflavine dans des vins authentiques de cépage Chardonnay.⁶² En effet, en traitant le vin avec 100 mg/L de charbon actif, ils ont diminué la concentration en riboflavine de 70%. Cependant, le traitement avec du charbon actif entraîne également une diminution de la concentration des autres composés du vin, tels que les composés aromatiques volatils ou les polyphénols. Cette méthode de protection peut donc mener à une modification du profil aromatique du vin et à la détérioration de ses propriétés organoleptiques. A travers cette étude, les auteurs ont cherché à diminuer la concentration en riboflavine présente dans les vins pour empêcher l'apparition du goût de lumière. Cependant, il est également possible de diminuer la concentration en méthionine afin de minimiser la formation du goût de lumière.

Afin d'obtenir des concentrations en méthionine plus faibles dans les vins et les Champagnes, il est possible d'utiliser des levures qui produisent peu de méthionine.⁶² Cependant, ces levures ne mènent pas nécessairement au profil aromatique recherché par le producteur. Cette méthode est donc fortement restrictive. Nous nous sommes donc tournés vers une solution alternative afin de diminuer la concentration en méthionine dans les vins et les Champagnes : l'utilisation d'une résine qui permet d'adsorber sélectivement la méthionine. En effet, en mélangeant le vin et cette résine pendant un temps suffisant, il est possible d'adsorber une partie de la méthionine et de diminuer sa concentration dans le vin. Une telle technologie permettrait de diminuer, voire d'empêcher, la formation du goût de lumière.

4.2 Adsorption de méthionine avec une résine à base de porphyrines

4.2.1 Présentation et applications des matériaux organiques poreux

L'utilisation d'une résine permettant d'adsorber la méthionine présente dans les vins et les Champagnes doit satisfaire plusieurs critères. Tout d'abord, la résine doit présenter une forte porosité. En effet, afin d'absorber le plus de méthionine possible, le matériau doit contenir de nombreux pores et donc avoir un ratio surface/volume élevé. Ce type de matériau poreux fonctionne sur un principe similaire à celui des adsorbants inorganiques tels que les zéolithes ou le charbon actif utilisés pour l'adsorption de composés organiques.¹³⁵ Ensuite, le matériau doit être insoluble dans les solutions hydro-alcooliques. En effet, après un certain temps de contact avec le vin ou le Champagne, le matériau doit pouvoir être facilement filtré et ne pas laisser de résidus dans le produit final. La résine doit également répondre aux normes des composés en contact avec un produit alimentaire.¹³⁶ Enfin, la résine doit être la plus sélective possible pour la méthionine afin de ne pas adsorber d'autres composés présents dans les vins et les Champagnes et qui contribuent à leur profil sensoriel.

Les matériaux poreux organiques permettant l'adsorption de molécules chimiques possèdent de nombreuses applications. Parmi elles, on peut citer la séparation de gaz¹³⁷ ou l'adsorption de micropolluants organiques¹³⁸. Contrairement aux adsorbants inorganiques

tels les zéolites ou le charbon actif, les matériaux poreux organiques présentent une certaine chimiosélectivité vis-à-vis de l'adsorption des molécules organiques du fait de leur structure chimique. En effet, la surface du charbon actif possède une structure chimiquement peu homogène avec de nombreux groupes fonctionnels contenant des atomes d'oxygène ou d'azote permettant d'absorber une large variété de composés organiques.¹³⁹ Les matériaux poreux peuvent être regroupés en trois catégories : les solides microporeux pour lesquels le diamètre des pores est inférieur à 2 nm, les solides mésoporeux dont le diamètre des pores est compris entre 2 et 50 nm et les solides macroporeux dont le diamètre des pores est supérieur à 50 nm.¹⁴⁰ En 2016, Alsaiee & al. ont montré que des polymères méso-poreux à base de β -cyclodextrines étaient efficaces pour adsorber les micropolluants organiques tels que les pesticides ou les résidus de plastique présents dans l'eau.¹³⁸ Ainsi, la réaction entre des β -cyclodextrines et le 2,3,5,6-tétrafluorotéréphthalonitrile permet de former un polymère méso-poreux ayant un rapport surface sur volume élevé (Figure 4.1).

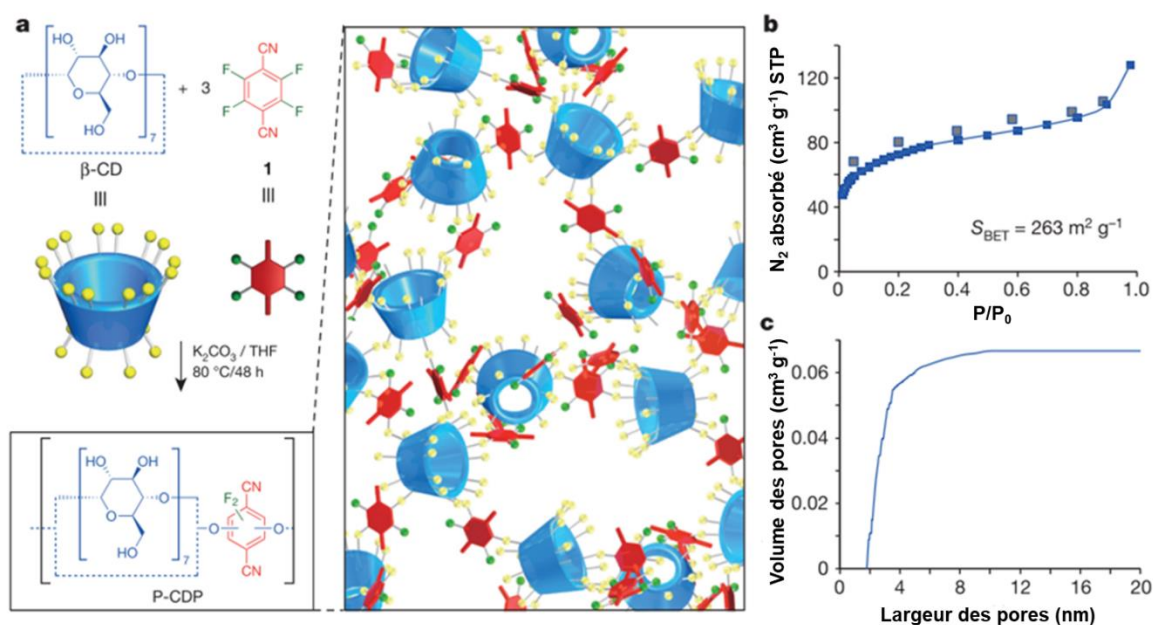


Figure 4.1 : (a) à gauche : synthèse du P-CDP. A droite : structure schématisée du P-CDP. (b) : isothermes d'adsorption (carrés bleus) et de désorption (carrés gris) du N_2 . P et P_0 sont respectivement les pressions d'équilibre et de saturation du N_2 à 77K. (c) : Volume cumulé des pores du P-CDP obtenus par NLDFT indiquant la méso-porosité du polymère.¹³⁸ Reproduit avec permission.

Sur la gauche de la Figure 4.1, la synthèse du polymère est décrite. Il est obtenu par substitution nucléophile aromatique du 2,3,5,6-tétrafluorotéréphthalonitrile par les

groupements hydroxyles des β -cyclodextrines en milieu basique. Le polymère absorbe une grande quantité de N_2 et il possède un ratio surface sur volume élevé (Figure 1.4.b). En effet, le S_{BET} mesuré est de $263 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. Cette valeur est obtenue selon la théorie de Brunauer-Emmett-Teller décrivant le phénomène d'adsorption des gaz sur des surfaces solides et permettant de calculer les ratios surface/volume des matériaux. Ce polymère permet d'adsorber les molécules organiques et pourrait donc être efficace pour adsorber la méthionine dans le vin. Cependant, le matériau décrit n'est vraisemblablement pas sélectif de la méthionine. En effet, il absorbe l'ensemble des micropolluants de type bisphénol, pesticides et micro-plastiques. Il pourrait être utilisé lors du traitement d'eaux usées, où il est intéressant d'adsorber le maximum de micropolluants possibles.

Afin d'obtenir des structures polymères contenant de nombreux pores et pouvant adsorber une grande quantité de gaz ou permettant de faire de la catalyse hétérogène, il est également possible de synthétiser des matériaux microporeux à base de motifs chimiques bien définis. Ces polymères en réseau possèdent des structures amorphes microporeuses similaires à celles du charbon actif avec un ratio surface/volume important à base de motifs organiques tels que les phtalocyanines¹⁴¹, les porphyrines¹⁴², ou les hexaazatrinaphtylènes¹³⁹. Ces matériaux possèdent des structures ouvertes, planes et poreuses grâce aux motifs spirocycliques rigides qui les composent et qui empêchent leur agrégation. Les matériaux organiques micro-poreux sont donc composés de motifs qui peuvent être reliés entre eux par des liaisons de coordination avec des métaux ou par des liaisons hydrogènes.

Les matériaux organiques micro-poreux à base de porphyrines, nommés résines dans la suite de ce chapitre pour des raisons de clarté, sont utilisés pour l'adsorption de gaz et la catalyse hétérogène.^{143,144} Contrairement aux catalyseurs homogènes, ils peuvent être facilement recyclés et être réutilisés.¹⁴⁵ De nombreux dérivés de *méso*-tétraphénylporphyrines forment des cristaux contenant de l'espace vide mais ils ne possèdent pas un ratio surface/volume important (évalué par adsorption de gaz réversible).¹⁴² En 2002, McKeown & al. ont publié une étude sur la synthèse d'une résine à partir du dérivé de *méso*-tétraphénylporphyrine **1** et de la bis-catéchol **2** (Schéma 4.1).

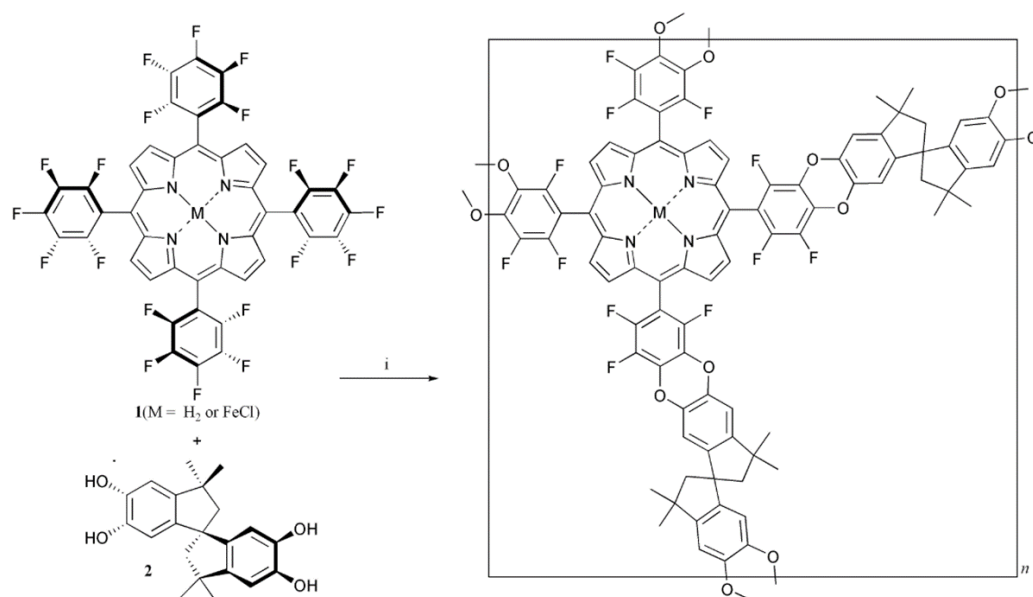


Schéma 4.1 : Synthèse d'une résine micro-poreuse par réaction entre la porphyrine 1 et le bis-catéchol 2.

Conditions opératoires (i) : K_2CO_3 , N-méthyl pyrrolidone, 200°C, 6h.¹⁴²

Les expériences d'adsorption et de désorption de N_2 ont montré que cette résine possède un ratio surface/volume important de 900-1000 $m^2 \cdot g^{-1}$. Ce ratio a été mesuré avec un Coulter SA 3100 et calculé selon la théorie BET. Les résines à base de porphyrines sont donc des adsorbants possédant un ratio surface/volume important contrairement aux cristaux de porphyrines. Ces matériaux à base de porphyrines possèdent donc les caractéristiques adéquates pour l'adsorption de méthionine.

4.2.2 Complexation de la méthionine avec des porphyrines en milieu aqueux

Les porphyrines sont des macrocycles constitués de quatre sous-unités de pyrroles jointes sur les carbones α par quatre ponts méthine. Ce sont des systèmes conjugués possédant au total 22 électrons π dont 18 sont impliqués dans leur aromaticité. Ce caractère aromatique leur confère une stabilité thermodynamique importante ainsi qu'une forte capacité à absorber la lumière dans le domaine du visible. Les porphyrines peuvent s'associer avec de nombreux métaux venant occuper la cavité centrale, tels que le fer, le cuivre, le zinc, ou encore le magnésium. Ainsi, par perte des deux protons portés par les atomes d'azote centraux, une porphyrine peut se lier avec un métal pour former un complexe.¹⁴⁶ Les porphyrines, grâce à leurs propriétés remarquables, possèdent de nombreuses applications. Elles sont utilisées en tant que photocatalyseurs en synthèse organique,¹⁴⁷ dans les cellules

organiques photovoltaïques,¹⁴⁸ en thérapie photodynamique,¹⁴⁹ ou en tant que sondes en bioimagerie.¹⁵⁰ Dans la Nature, les porphyrines facilitent les processus chimiques tels que la photosynthèse, le transport d'oxygène, ou les oxydations catalytiques.¹⁵¹ Quelques structures de porphyrines intervenant dans les processus naturels sont présentés dans la Figure 4.2.

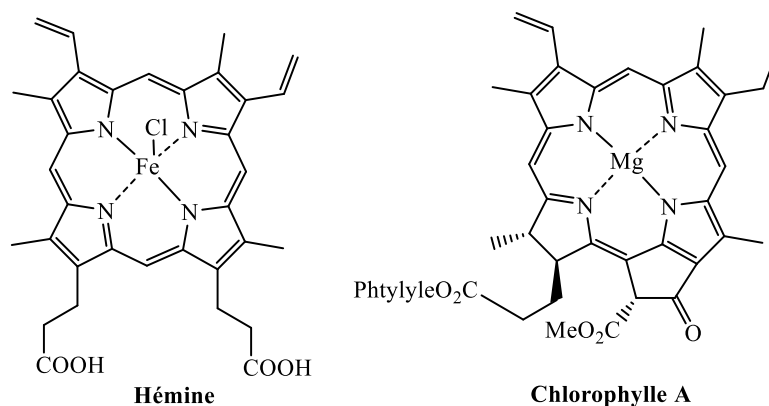


Figure 4.2 : Formules topologiques de l'hémine et de la chlorophylle A.

Les acides aminés peuvent se lier avec des porphyrines à base de fer. En 2018, Samajdar & al. ont montré que l'histidine, le tryptophane et la cystéine peuvent se lier au fer central de l'hémine.¹⁵² Cette porphyrine est formée à partir d'un groupe hémique, comme l'hème b, qui est présent dans l'hémoglobine du corps humain. De plus, en 1979, Ellis & al. ont étudié la formation de complexes entre des porphyrines à base de fer ou de cobalt et des molécules soufrées.¹⁵³ Les auteurs ont mesuré les constantes d'association entre les porphyrines et les molécules soufrées afin de mieux comprendre les interactions existantes entre l'atome de soufre de la méthionine et le motif hème des cytochromes C qui sont liés par une liaison de coordination. Les acides aminés peuvent également se lier à des porphyrines à base de zinc. En 1999, Mizutani & al. ont montré que des acides aminés tels que l'histidine ou l'arginine peuvent former des complexes avec des porphyrines à base de zinc à travers des liaisons azote-zinc (N-Zn).¹⁵⁴ Enfin, Foster & al. ont montré que des porphyrines à base de cuivre pouvaient s'associer avec l'acide ribonucléique de transfert.¹⁵⁵ Les porphyrines métallées peuvent adsorber sélectivement les acides aminés (dont la méthionine) par rapport à d'autres composés présents dans les vins et les Champagnes. Par exemple, la méthionine peut se lier au centre métallique des porphyrines par formation d'une liaison métal-soufre (M-S) et l'histidine par formation d'une liaison métal-azote (M-N).

L'utilisation d'une résine à base de porphyrines cuivrées pourrait donc permettre de complexer des acides aminés soufrés et azotés, dont la méthionine. Le cuivre est un métal abondant,¹⁵⁶ peu toxique à faible concentration¹⁵⁷ et les liaisons cuivre-soufre sont des liaisons fortes.¹⁵⁸ De plus, le cuivre est un métal déjà présent dans les vins et les Champagnes. En effet, ces produits s'enrichissent en cuivre suite à des traitements avec la « bouillie bordelaise », un fongicide à base de sulfate de cuivre (II). Ainsi, si la résine relâche une faible quantité de cuivre dans le produit, cela ne sera pas problématique car le seuil maximal de cuivre autorisé dans les vins et les Champagnes est de 1 mg/L. Afin de déterminer si la complexation entre des porphyrines à base de cuivre et la méthionine est possible, les porphyrines hydrosolubles présentées sur le Schéma 4.2 ont été utilisées comme modèles. En effet, nous souhaitons déterminer si les porphyrines cuivrées hydrosolubles peuvent complexer la méthionine dans l'eau à travers une combinaison d'interactions cuivre-soufre et électrostatiques.

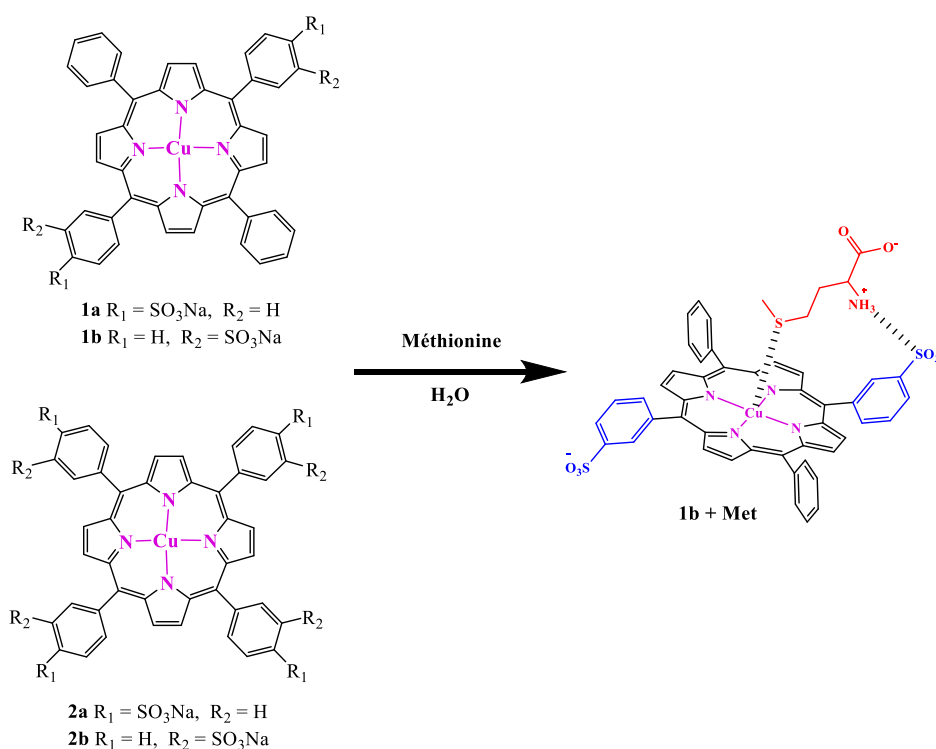
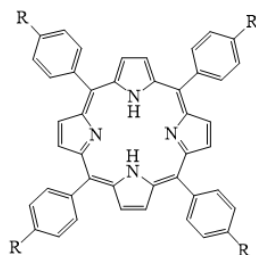


Schéma 4.2 : Porphyrines cuivrées cibles et association avec la méthionine dans l'eau.

Plusieurs types de *méso*-porphyrines cibles ont été choisis. Les porphyrines **1a** et **1b** correspondent à des porphyrines symétriques de type A_2B_2 contenant deux substituants phényles et deux substituants phénylesulfonates. Les groupement sulfonates peuvent se

trouver en position *para* (**1a**) ou *mé*ta (**1b**). Ce type de porphyrine permet de fonctionnaliser ultérieurement les substituants phényles pour réaliser les étapes de polymérisation et l'obtention de la résine poreuse. Les porphyrines **2a** (groupements sulfonates en position *para*) et **2b** (groupements sulfonates en position *mé*ta) correspondent à des porphyrines avec quatre substituants phénylsulfonates. Ces dérivés sont plus faciles à synthétiser et devraient être plus solubles dans l'eau car ils comportent quatre groupements anioniques. Les interactions entre la méthionine et la porphyrine donnent lieu à la formation d'un complexe de cuivre (II) paramagnétique (Schéma 4.2). La méthionine peut interagir de deux manières avec la porphyrine. La première correspond à la coordination entre l'atome de soufre de la méthionine et l'atome de cuivre central de la porphyrine. La deuxième correspond à des interactions électrostatiques entre le groupement ammonium de la méthionine et les substituants sulfonates de la porphyrine jouant le rôle de récepteurs. La combinaison de ces deux types d'interactions pourrait donc permettre de former des complexes stables entre la méthionine et la porphyrine.

En milieu aqueux, les porphyrines hydrosolubles ont tendance à former des agrégats, même à des concentrations de l'ordre du micro molaire. Les agrégats se forment à travers des liaisons hydrogènes, des interactions électrostatiques et des interactions hydrophobes.¹⁵⁹ L'agrégation et la solubilité de quatre *mé*so-tétraphényles porphyrines hydrosolubles servant de modèles pour la thérapie photodynamique ont fait l'objet d'une étude par Sobczynski & al.¹⁶⁰ Les auteurs ont comparé le comportement d'une porphyrine non-ionique (R = 4-hydroxyle), d'une porphyrine cationique (R = 4-triméthylanilinium) et de deux porphyrines anioniques (R = 4-sulfonate et R = 4-carboxylate). Ils ont montré que les porphyrines pouvaient être présentes sous plusieurs formes ioniques en fonction du pH de la solution étudiée (Figure 4.3).



Substituants protonés	Noyau de la porphyrine protoné	Base libre	Base libre déprotonée	Substituants (R)
	$TAPP^{4+}H_2^{2+} \xrightleftharpoons[pK_a = 2.3]{+ 2 H^+} TAPP^{4+}$	$TAPP^{4+}$		- $N(CH_3)_3^+$
	$THPPH_2^{2+} \xrightleftharpoons[pK_{a1} \sim 4.5^{**}]{+ 2 H^+} THPP$	$THPP$	$THPP^{4-} \xrightleftharpoons[pK_{a2} = 10.8]{- 4 H^+} THPP^{4-}$	- OH
$TSPPH_2^{2+}$	$TSPPH_2^{2+} \xrightleftharpoons[pK_{a1} < 1.0^*]{+ 4 H^+} TSPPH_2^{2+} \xrightleftharpoons[pK_{a2} = 4.6]{+ 2 H^+} TSPPH_2^{2+}$	$TSPPH_2^{2+}$	$TSPPH_2^{2+} \xrightleftharpoons[pK_{a2} = 5.2]{+ 2 H^+} TSPPH_2^{2+}$	- SO_2OH
$TCPPH_2^{2+}$	$TCPPH_2^{2+} \xrightleftharpoons[pK_{a1} \sim 4.2^*]{+ 4 H^+} TCPPH_2^{2+} \xrightleftharpoons[pK_{a2} = 6.0]{+ 2 H^+} TCPPH_2^{2+}$	$TCPPH_2^{2+}$	$TCPPH_2^{2+} \xrightleftharpoons[pK_{a2} = 6.6]{+ 2 H^+} TCPPH_2^{2+}$	- COOH

Figure 4.3 : Structures moléculaires et équilibres ioniques de quatre méso-porphyrines hydrosolubles.¹⁶⁰

Les porphyrines possèdent plusieurs formes ioniques et plusieurs pKa associés en fonction du pH de la solution. La *mésotétrakis(4-sulfonatophényle) porphyrine* (TSPH) nous intéresse particulièrement car elle correspond à une des porphyrines modèles envisagées pour la complexation de la méthionine avant métallation par le cuivre (II). Cette porphyrine possède deux pKa de 4,6 et 5,2 correspondant à la protonation des atomes d'azote centraux. Ainsi, pour des pH inférieurs à 4,6, la porphyrine se trouve majoritairement sous la forme $TSPH^{4-}H_2^{2+}$ et les atomes d'azote centraux sont protonés. Le spectre d'absorption de la plupart des porphyrines possédant des substituants tétraphényles sous leur forme « base libre » (le centre de la porphyrine n'est pas protoné) présente quatre bandes d'absorption au-delà de 500 nm. Ces pics d'absorption nommés « bandes Q » correspondent aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ de plus basse énergie. Une bande d'absorption étroite et plus intense autour de 400 nm, appelée bande de Soret, correspond à la seconde transition $\pi \rightarrow \pi^*$. Cette bande présente généralement un épaulement hypsochrome correspondant à une transition $n \rightarrow \pi$.¹⁶¹ La protonation des azotes centraux des porphyrines anioniques entraîne un déplacement bathochrome de la bande de Soret ainsi que de la bande Q correspondant à la longueur d'onde d'absorption la plus élevée.¹⁶²

Les porphyrines peuvent former des agrégats de type H ou de type J. Les agrégats de type H correspondent à l'empilement des porphyrines par agrégation « face à face » et leur formation entraîne un déplacement hypsochrome ainsi qu'un élargissement de la bande de Soret.¹⁶³ Les agrégats de type J correspondent à des lignes parallèles de porphyrines « côte à côte » (Figure 4.4) et leur formation entraîne un déplacement bathochrome ainsi qu'un rétrécissement de la bande de Soret.¹⁶⁴ Plusieurs facteurs peuvent influencer la formation d'agrégats tels que la concentration en porphyrine,¹⁶⁵ l'acidité de la solution,¹⁶⁶ la présence d'ions métalliques¹⁶⁷ et l'ajout de tensioactifs.¹⁶³

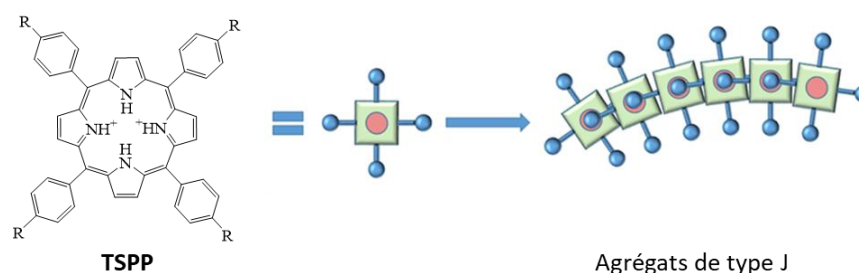


Figure 4.4 : Formule topologique de la TSPP⁴⁻H₂²⁺ et représentation schématique de la formation d'un agrégat de type J.¹⁶⁸ R = SO₃⁻. Reproduit avec permission.

La TSPP à pH neutre est présente sous la forme TSPP⁴⁻ et le spectre d'absorption associé possède une bande de Soret à 412 nm ainsi que quatre bandes Q au-delà de 500 nm. A des concentrations de l'ordre du micro molaire et pour des solutions ayant une force ionique faible, la TSPP⁴⁻ serait majoritairement présente sous la forme de monomères.¹⁶⁹ L'ajout d'ions métalliques n'entraîne pas de changements notables dans le spectre d'absorption de la TSPP pour ces conditions.¹⁶⁷ Cependant, lorsque la concentration en TSPP⁴⁻ est de l'ordre de 5 mM, Gandini & al. ont montré par diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) que la TSPP⁴⁻ est présente sous forme de petits agrégats de type H.¹⁷⁰ Une autre étude de Castriciano & al. a montré que la TSPP⁴⁻ est présente sous la forme de monomères pour des concentrations de l'ordre du micro molaire dans l'eau.¹⁷¹ Cependant, lorsque les auteurs ont augmenté la concentration en TSPP⁴⁻ et qu'ils ont utilisé un mélange AOT/eau/décane comme solvant (microémulsion), la TSPP⁴⁻ était majoritairement présente sous la forme de dimères de type H. Enfin, Hollingsworth & al. ont montré qu'à pH neutre et sans ajout d'espèces ioniques, la TSPP⁴⁻ pouvait former des dimères et des trimères pour des concentrations de l'ordre du micro molaire.¹⁷² Les auteurs ont constaté la présence d'un épaulement à 406 nm sur le spectre

d'absorption de la porphyrine qui correspondrait à des dimères de type H de la TSPP⁴⁻. La TSPP à pH neutre est donc présente sous différentes formes en fonction de la concentration et de la force ionique de la solution.

Lorsque le pH de la solution est abaissé à 5,5, une nouvelle bande d'absorption à 434 nm apparaît. Elle correspond à la forme di-acide TSPP⁴⁻H₂²⁺.¹⁶⁰ En effet, les deux espèces sont en équilibre car le pH est proche de la valeur du pKa₂ (Figure 4.3). Lorsque le pH de la solution se situe autour de 4, l'intensité de la bande d'absorption à 434 nm augmente et une nouvelle bande d'absorption à 490 nm apparaît. Cette dernière correspond à la formation d'agrégats de type J favorisés pour les pH acides.¹⁷³ Lorsque le pH de la solution est inférieur à 2,5, la bande d'absorption correspondant aux agrégats de type J devient majoritaire.¹⁶⁰ L'ajout d'ions métalliques à une solution de TSPP à pH = 1,9 permet de favoriser la formation d'agrégats J car la force ionique de la solution est plus importante.¹⁶⁷ En 2018, Trapani & al. ont publié une étude sur la désagrégation des agrégats de type J à base de TSPP en milieu acide.¹⁶⁸ Les auteurs ont montré que les agrégats de type J de la TSPP peuvent être transformés en monomères suite à l'ajout d'ions Cu²⁺ dans le milieu. L'insertion de l'ion métallique dans le noyau de la porphyrine entraîne une désagrégation car les interactions stabilisantes des agrégats sont rompues. Ainsi, même à pH acide (jusqu'à pH = 2,3 dans l'étude), la métallation de la TSPP avec du cuivre (II) permet de dissocier les agrégats de type J en monomères ou en agrégats de taille plus faible.

Les porphyrines cuivrées **1a**, **1b**, **2a** et **2b** ne devraient donc pas former d'agrégats de type J à des pH compris entre 3 et 7. Cependant, certaines études ont montré que la formation de dimères est possible entre une métallo-porphyrine ayant des substituants chargés positivement d'une part et une métallo-porphyrine ayant des substituants chargés négativement d'une autre part.^{174,175} Ces dimères sont obtenus en raison d'interactions électrostatiques entre les composants. La formation de dimères dans une solution aqueuse contenant uniquement la porphyrine **2b** a également été observée. En 1975, Krishnamurthy & al. ont montré par spectroscopie UV-Visible que la porphyrine **2b** (notée CuTSPP) est majoritairement présente sous la forme de dimères à pH = 7 en présence de nitrate de sodium à une concentration de 0,05 M.¹⁷⁶ En effet, la relation entre l'absorbance de la solution et la

concentration en porphyrine n'obéit pas à la loi de Beer-Lambert. Une constante d'association de $6,7 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1}$ a ainsi été déterminée.

Plus tard, Shinozaki & al. ont montré que la formation du dimère de la 5,10,15,20-tétrakis(4-sulfonatophényle)palladium porphyrine (PdTSPP) est favorisée lorsque la force ionique de la solution est importante.¹⁷⁷ Pour une concentration en NaClO_4 de 0,01 M, la constante d'association serait de $1,45 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1}$ alors que pour une concentration en NaClO_4 de 0,5 M, la constante d'association serait de $60,4 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1}$. Les structures de la PdTSPP et de la CuTSPP étant très proches, ces observations sont également vraies pour la CuTSPP. Ces résultats suggèrent que la formation du dimère résulte de l'attraction entre les motifs hydrophobes des porphyrines qui augmente lorsque la force ionique de la solution augmente. En effet, les répulsions électrostatiques entre les groupements sulfonates sont alors diminuées.¹⁷⁷

La formation d'agrégats et de dimères de TSPP ou de CuTSPP en solution aqueuse est donc un phénomène complexe dépendant fortement de la force ionique et de la concentration en porphyrine dans la solution. Ces équilibres entre plusieurs formes doivent donc être pris en compte lors de l'étude de complexation de la méthionine avec les porphyrines.

4.3 Synthèse des *méso*-porphyrines cuivrées

4.3.1 Synthèse des *méso*-porphyrines cuivrées **1a** et **2a** de type A_2B_2

Dans un premier temps, les *méso*-porphyrines **1a** et **1b** ont été synthétisées. Ces composés correspondent à des porphyrines de type A_2B_2 , c'est-à-dire avec des substituants symétriques 2 à 2. La stratégie de synthèse des porphyrines **1a** et **1b** présente l'avantage de pouvoir éventuellement fonctionnaliser les deux substituants phényles libres afin d'obtenir une résine de porphyrines permettant l'adsorption de méthionine. La synthèse de ces composés a été faite selon le schéma réactionnel présenté sur le Schéma 4.3. Pour chaque étape, les composés notés **a** et **b** ont été synthétisés séparément.

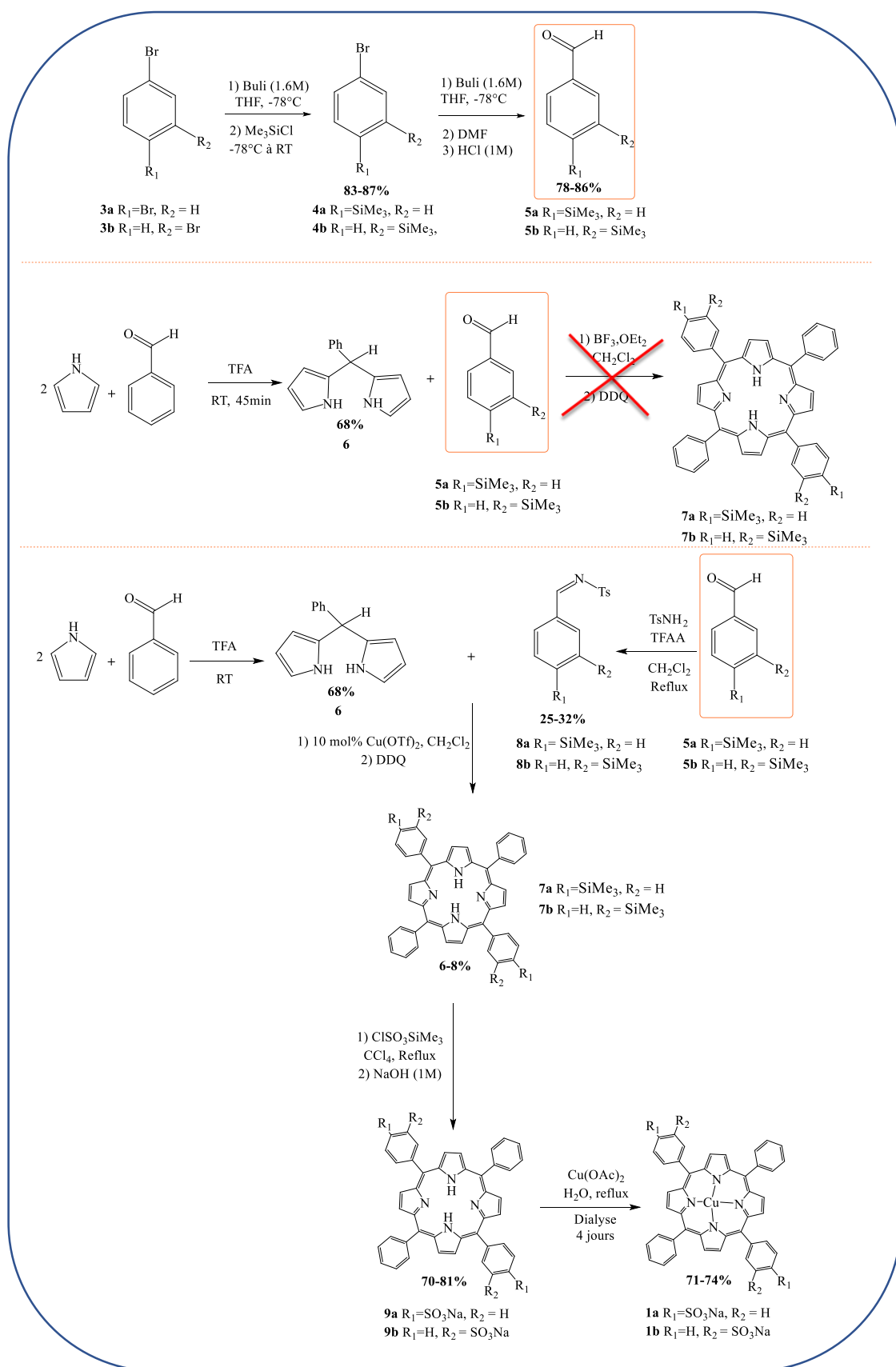


Schéma 4.3 : Synthèse des-porphyrines 1a et 1b.

On peut résumer le schéma de synthèse ainsi : les dibromobenzènes **3a** et **3b** sont traités successivement avec le *n*-butyllithium et le chlorure de triméthylsilyle afin d'obtenir les dérivés silylés **4a** et **4b** correspondants.¹⁷⁸ Les composés **4a** et **4b** sont à nouveau traités avec le *n*-butyllithium, puis le DMF et la solution obtenue est acidifiée avec de l'acide chlorhydrique à 1M afin de former les aldéhydes **5a** et **5b**, respectivement.¹⁷⁸ Le 5-phényldipyrrométhane **6** a été obtenu par réaction entre le benzaldéhyde et le pyrrole en présence de TFA. Le pyrrole est ajouté en large excès et constitue également le solvant de la réaction.¹⁷⁹ La condensation entre les aldéhydes **5a** et **5b** et le 5-phényldipyrrométhane **6** a ensuite été réalisée en présence d'éthérate de trifluorure de bore et de la 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ) afin de former les porphyrines **7a** et **7b** respectivement. Cependant, après plusieurs essais en faisant varier les conditions expérimentales ainsi que les méthodes de purification, la porphyrine n'a pas été isolée avec une pureté suffisante. Cela s'explique par les nombreuses réactions parasites qui interviennent lors de la synthèse de la porphyrine ainsi que par la présence de porphyrines non voulues. Un mélange de porphyrines avec des substituants mixtes de type A₂B₂, A₁B₃ ou A₃B₁ a été obtenu. Ce phénomène a été largement décrit dans la littérature sous le terme de « scrambling ».^{180,181} Il est très difficile de séparer les différentes porphyrines obtenues par colonne chromatographique car elles possèdent des temps de rétention très similaires.

Afin d'éviter le phénomène de scrambling, plusieurs solutions peuvent être envisagées. La première serait de remplacer les substituants phényles par des groupements plus volumineux ce qui permettrait d'induire de la gêne stérique et d'éviter le phénomène de scrambling.¹⁸⁰ La deuxième solution consiste à remplacer les aldéhydes **5a** et **5b** par les imines associées **8a** et **8b** pour réaliser la réaction de condensation menant à la formation des porphyrines **7a** et **7b**. Ainsi, les imines **8a** et **8b** ont été obtenues par traitement des aldéhydes **5a** et **5b** avec le *p*-toluènesulfonamide et l'anhydride trifluoroacétique.¹⁸² Les porphyrines **7a** et **7b** sont ensuite synthétisées par condensation entre les imines **8a** et **8b** et le 5-phényldipyrrométhane **6** suite aux ajouts successifs de 10% molaire de triflate de cuivre et de DDQ.¹⁸³ Les porphyrines hydrosolubles **9a** et **9b** sont respectivement obtenues par traitement des porphyrines **7a** et **7b** avec du triméthylsilylchlorosulfonate puis hydrolyse de l'intermédiaire formé avec de la soude à 1M. La purification de ces composés est effectuée à

l'aide d'une membrane de dialyse.¹⁷⁸ Enfin, les porphyrines cuivrées **1a** et **1b** sont obtenues par traitement des porphyrines **9a** et **9b** avec de l'acétate de cuivre (II) dans l'eau et après purification par dialyse. Le rendement global de la synthèse est de 0,65% pour le composé **1a** et de 0,87% pour le composé **1b**.

4.3.1.1 Synthèse des aldéhydes **5a** et **5b**

La synthèse des aldéhydes **5a** et **5b** a été faite selon le schéma réactionnel présenté ci-dessous (Schéma 4.4)

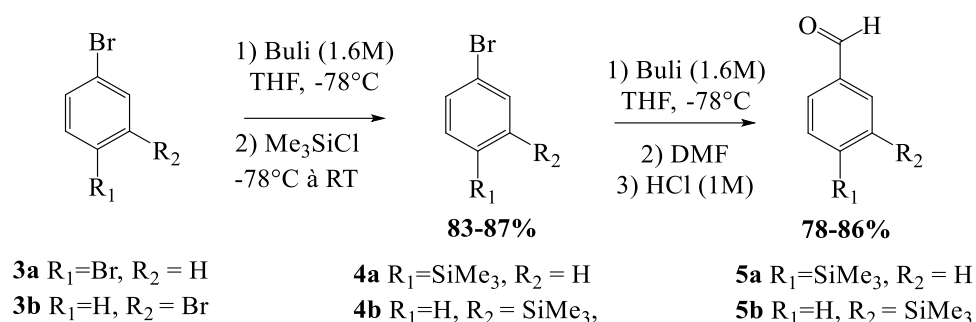


Schéma 4.4 : Synthèse des aldéhydes **5a** et **5b** à partir des dibromobenzènes **3a** et **3b** en deux étapes.

La première réaction permet d'introduire le groupement triméthylsilyle sur le cycle aromatique et a été faite en suivant un protocole de Ye & al.¹⁷⁸ L'ajout de *n*-butyllithium aux dibromobenzènes **3a** et **3b** dans le THF à -78°C permet de former un intermédiaire lithié nucléophile qui réagit avec le chlorure de triméthylsilyle. Après traitement de la phase organique, une chromatographie sur colonne de silice avec l'hexane comme éluant a été réalisée afin d'éliminer les impuretés présentes. Les composés **4a** et **4b** ont été obtenus avec des rendements de 87% et 83% respectivement.

La deuxième réaction permet de remplacer l'atome de brome restant par un groupement aldéhyde et a été faite selon un protocole adapté de Ye & al.¹⁷⁸ L'ajout de *n*-butyllithium aux composés **4a** et **4b** permet de former un intermédiaire lithié qui réagit avec le DMF. L'ajout d'acide chlorhydrique à 1M en fin de réaction permet d'hydrolyser l'intermédiaire hémiaminal formé pour obtenir les aldéhydes **5a** et **5b**. Après traitement de la phase organique, les composés **5a** et **5b** ont été obtenus sans étape de purification supplémentaire avec des rendements de 86% et 78%, respectivement. Les composés **5a** et **5b**

ont donc été obtenus avec de bons rendements et ont été caractérisés par CCM et par spectroscopie RMN.

4.3.1.2 Synthèse des *N*-tosylimines **8a** et **8b**

Les *N*-tosylimines **8a** et **8b** ont été synthétisées respectivement par réaction entre les aldéhydes **5a** et **5b** et le *p*-toluènesulfonamide en présence d'anhydride trifluoroacétique selon une procédure de Lee & al.¹⁸² Le mécanisme de la réaction est présenté sur le Schéma 4.5.

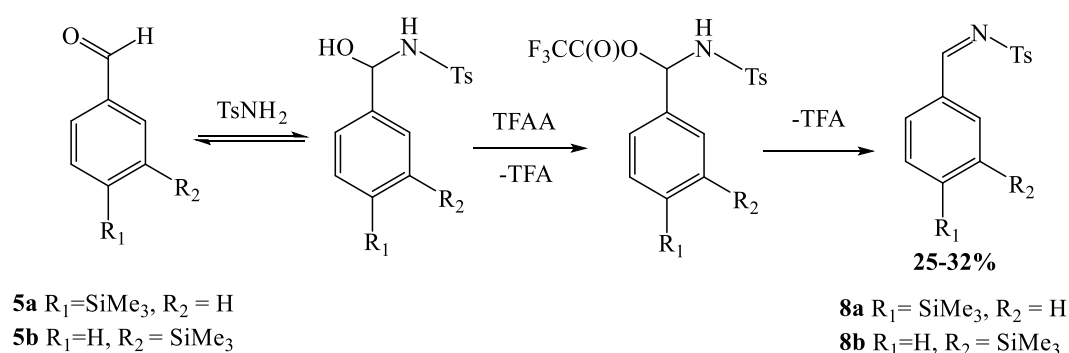


Schéma 4.5 : Mécanisme de formation des *N*-tosylimines **8a** et **8b** à partir des aldéhydes **5a** et **5b**.

L'ajout du *p*-toluènesulfonamide aux aldéhydes **5a** et **5b** permet de former les amines secondaires correspondantes qui sont en équilibre avec les aldéhydes. Cet équilibre évolue spontanément vers la formation de la *N*-tosylimine en présence d'anhydride trifluoroacétique. La réaction se déroule à reflux pendant 22h et après traitement de la phase organique ainsi qu'une chromatographie sur gel de silice en utilisant un éluant hexane/Et₂O (8/1), les *N*-tosylimines **8a** et **8b** ont été obtenues avec des rendements de 25 et 32%. Lors du suivi de la réaction par CCM, on observe qu'il reste une grande quantité d'aldéhyde initial à la fin de la réaction qui n'a pas réagi. Afin d'améliorer le rendement de cette réaction, plusieurs modifications ont été effectuées :

- Un temps de réaction de 72h au lieu de 24h
- La réaction a été réalisée sous atmosphère d'argon
- La température de chauffage a été diminuée afin de ne pas évaporer le TFAA ($T_{\text{eb}} = 40^\circ\text{C}$)
- Des équivalents supplémentaires de TsNH₂ et de TFAA ont été ajoutés

Cependant, aucune de ces modifications n'a permis d'augmenter le rendement de manière significative. La présence du groupement SiMe_3 induit peut-être des effets électroniques défavorables pour réaliser cette réaction. Les composés **8a** et **8b** ont donc été obtenus avec des rendements modestes mais une pureté très satisfaisante et ont été caractérisés par spectroscopie RMN et par CCM.

4.3.1.3 Synthèse du 5-phényldipyrrométhane **6**

La synthèse du 5-phényldipyrrométhane **6** a largement été décrite dans la littérature en se basant sur les travaux de Lindsey & al.^{179,184,185} Le protocole de synthèse le plus récent décrit par Laha & al.¹⁷⁹ a été utilisé pour obtenir le composé **6** (Schéma 4.6).

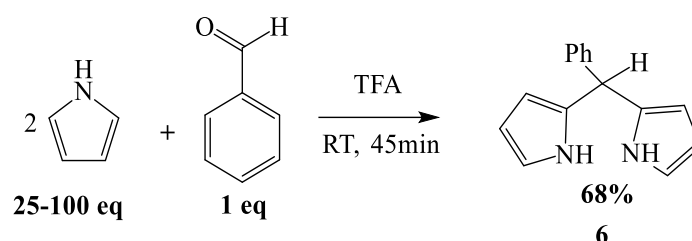


Schéma 4.6 : Synthèse du 5-phényldipyrrométhane **6** à partir de pyrrole et de benzaldéhyde.

La condensation entre le pyrrole en large excès (qui joue à la fois le rôle de réactif et de solvant) et le benzaldéhyde permet d'obtenir le 5-phényldipyrrométhane. La réaction se fait facilement mais les traitements et la purification du produit s'avèrent être plus complexes. En effet, en raison de la formation d'oligomères de pyrrole, il est nécessaire de réaliser une séparation sur colonne de silice afin de séparer le produit des oligomères noirs. Le solide brut obtenu est ensuite repris dans l'hexane afin d'éliminer le pyrrole résiduel. Le 5-phényldipyrrométhane pur est obtenu sous la forme d'un solide jaune après recristallisation dans un mélange eau/éthanol à chaud. Le produit a été synthétisé avec un rendement de 68%.

4.3.1.4 Synthèse des méso-porphyrines **7a** et **7b** de type A_2B_2

Les porphyrines **7a** et **7b** ont été respectivement synthétisées par condensation entre les dérivés *N*-tosylimine **8a** et **8b** ainsi que le phényldipyrrométhane **6** en suivant une procédure de Temelli & al.¹⁸³ (Schéma 4.7).

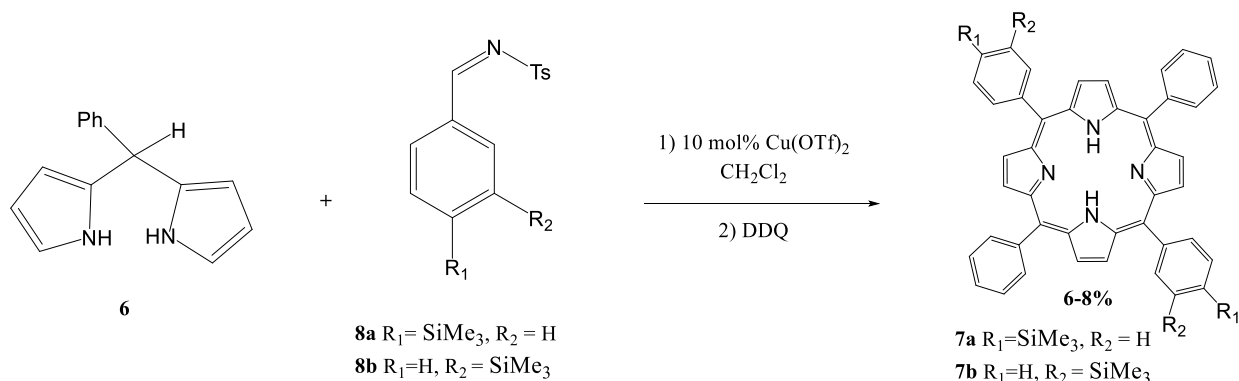


Schéma 4.7 : Synthèse des porphyrines 7a et 7b par condensation entre le phényldipyrrométhane et les N-tosylimines 8a et 8b.

La condensation entre le dipyrrométhane **6** et les aldéhydes **5a** et **5b** entraîne des processus de « scrambling » importants et ne permet pas d'obtenir la porphyrine avec une pureté satisfaisante. La condensation entre les N-tosylimines **8a** et **8b** et le 5-phényldipyrrométhane **6** permet de diminuer ce phénomène. L'ajout de triflate de cuivre (II) (acide de Lewis et catalyseur de la réaction) à des solutions contenant respectivement les composés **5a** et **8a** et **5b** et **8b** sous atmosphère inerte permet de former un noyau porphyrinogène. L'ajout de DDQ dans le milieu réactionnel oxyde l'intermédiaire porphyrinogène pour former la porphyrine souhaitée. Deux purifications successives sur alumine puis sur gel de silice ont permis d'isoler la deuxième bande violette correspondant aux porphyrines **7a** et **7b**. Les composés **7a** et **7b** ont été obtenus avec de faibles rendements de 6 et 8 % respectivement. Les rendements de synthèses des porphyrines sont généralement faibles car le pyrrole forme des oligomères dans les solvants organiques. Les temps de réaction ainsi que les quantités de matière des réactifs ont été modifiés afin d'améliorer le rendement de la synthèse mais sans succès.

4.3.1.5 Synthèse des méso-porphyrines hydrosolubles 9a et 9b

Cette réaction permet de transformer les groupements SiMe_3 introduits au début du schéma de synthèse en groupements SO_3Na afin d'obtenir des porphyrines hydrosolubles. La procédure de Ye & al. a été suivie (Schéma 4.8).¹⁷⁸

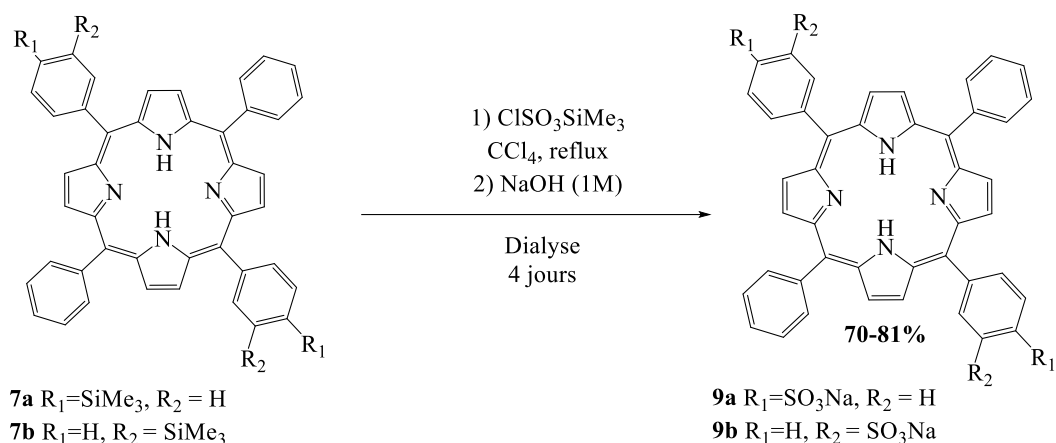


Schéma 4.8 : Synthèse des porphyrines hydrosolubles 9a et 9b.

Le triméthylsilylchlorosulfonate, qui est un agent de sulfonation, a été ajouté aux porphyrines **7a** et **7b** dans le tétrachlorométhane à reflux et la réaction s'est déroulée pendant 5h. La disparition du pic correspondant au groupement triméthylsilyle a été suivie par spectroscopie RMN ^1H afin de déterminer le temps de réaction nécessaire pour réaliser la réaction de sulfonation. L'intermédiaire formé est ensuite hydrolysé par l'ajout de soude à 1M et le produit est purifié par dialyse pendant 4 jours afin d'éliminer les impuretés inorganiques. Pour réaliser la dialyse, le produit brut a été dilué dans un minimum d'eau ultra pure et placé dans une membrane qui retient la porphyrine mais pas les ions et les molécules de petite taille (protocole complet détaillé page 209). Les porphyrines **9a** et **9b** ont été obtenues après lavage à l'acétone sous la forme d'un solide violet avec de bons rendements de 81% et 70% respectivement. Afin d'éviter d'utiliser le tétrachlorométhane comme solvant de réaction, des synthèses en utilisant le dichlorométhane ont été faites. Cependant, la réaction n'était pas complète et un mélange de dérivés mono- et bis- sulfonés étaient obtenus. Cela signifie que la température de réaction impacte fortement la réaction de substitution électrophile lors de l'ajout du triméthylsilylchlorosulfonate.

Les porphyrines **9a** et **9b** ont été caractérisées par UV-Vis dans l'eau et montrent des spectres caractéristiques de porphyrines non métallées. En effet, une bande d'absorption de forte intensité à 412 nm (bande de Soret) et quatre bandes Q moins intenses entre 500 nm et 650 nm sont présentes sur le spectre d'absorption.¹⁶⁰ Quatre bandes Q sont observées car deux atomes d'azote du noyau de la porphyrine sont protonés et deux ne le sont pas. Ainsi, la porphyrine possède une symétrie D_2h ce qui entraîne une division des bandes Q.¹⁸⁶

4.3.1.6 Méallation des porphyrines **9a** et **9b** afin d'obtenir les composés **1a** et **1b**

La réaction de méallation des porphyrines permet d'insérer un métal au sein du noyau de la porphyrine par substitution des deux protons liés aux atomes d'azote. Pour les raisons énoncées dans la partie 4.2.2, le cuivre a été choisi comme métal. La réaction de méallation a été faite dans l'eau en présence d'acétate de cuivre (II) (Schéma 4.9).

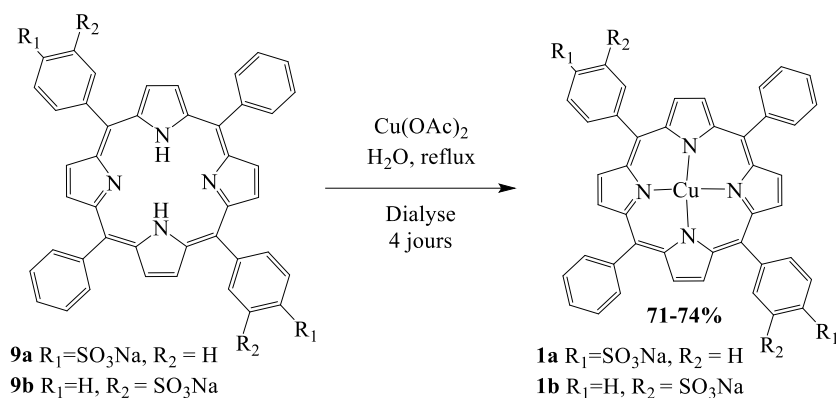


Schéma 4.9 : Réaction de méallation des porphyrines **9a** et **9b** avec de l'acétate de cuivre (II).

L'avancée de la réaction a été suivie par spectroscopie UV-Vis. En effet, lors de la formation du complexe métallé, les quatre bandes Q des porphyrines **9a** et **9b** sont remplacées par une bande ayant une longueur d'onde d'absorption différente (exemple page 224). Cette modification du spectre d'absorption est due à un changement de symétrie de la molécule. En substituant les deux protons par un ion métallique, la porphyrine passe d'une symétrie D_{2h} à une symétrie D_{4h} .¹⁸⁷ Afin d'éliminer l'acétate de cuivre (II) résiduel, le produit brut a été purifié par dialyse pendant quatre jours. Cependant, lors de la solubilisation des porphyrines dans l'eau avant dialyse, les porphyrines n'étaient pas complètement dissoutes. Cela suggère que la solubilité des composés dans l'eau n'est pas élevée (inférieure à 0,5 mM). Les porphyrines **1a** et **1b** ont été obtenues avec des rendements de 71 et 74% respectivement.

Les synthèses effectuées ont permis d'obtenir les *méso*-porphyrines **1a** et **1b** et vont nous permettre de réaliser les études de complexation de la méthionine en milieu aqueux. L'étape clef de cette synthèse a été la transformation des aldéhydes en *N*-tosylimines qui a permis d'obtenir les porphyrines **7a** et **7b** avec une pureté très satisfaisante tout en évitant le phénomène de « scrambling », malgré des rendements de réaction faibles.

4.3.2 Synthèse des *méso*-porphyrines cuivrées **2a** et **2b** avec quatre substituants anioniques4.3.2.1 Synthèse de la *méso*-tétrakis(4-sulfonophényle) porphyrine cuivrée **2a**

La *méso*-tétrakis(4-sulfonatophényle) porphyrine (**10a**) est disponible commercialement et a donc été utilisée telle quelle. La métallation de la porphyrine **10a** permettant d'obtenir la porphyrine **2a** a été faite selon la procédure classique de métallation présentée dans la partie 4.3.1 en présence d'acétate de cuivre (II) dans l'eau (Schéma 4.10)

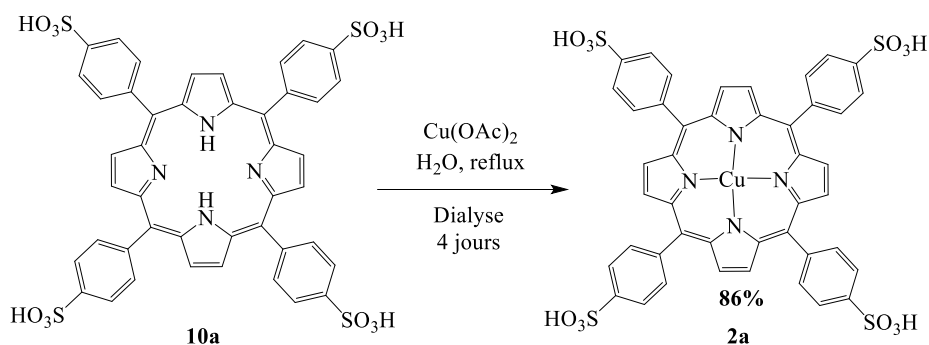


Schéma 4.10 : Métallation de la porphyrine 10a pour former la *méso*-Tétrakis(4-sulfonatophényle) porphyrine cuivrée 2a.

Le mélange contenant la porphyrine **10a** et l'acétate de cuivre (II) a été chauffé à reflux et des mesures par spectroscopie UV-Vis ont été faites au cours du temps. Après 30 min de réaction, les quatre bandes Q correspondant à la porphyrine **10a** ont été intégralement remplacées par une bande Q correspondant à la porphyrine métallée. Après purification par dialyse pendant quatre jours afin d'éliminer l'acétate de cuivre (II) et les sels inorganiques résiduels, la porphyrine **2a** a été obtenue avec un rendement de 86%.

4.3.2.2 Synthèse de la *méso*-tétrakis(3-sulfonatophényle) porphyrine cuivrée **2b**

La *méso*-tétrakis(3-sulfonatophényle) porphyrine (**10b**) n'étant pas disponible commercialement, elle a été synthétisée selon un schéma réactionnel proche de celui utilisé pour la synthèse des porphyrines de type A_2B_2 (Schéma 4.11).

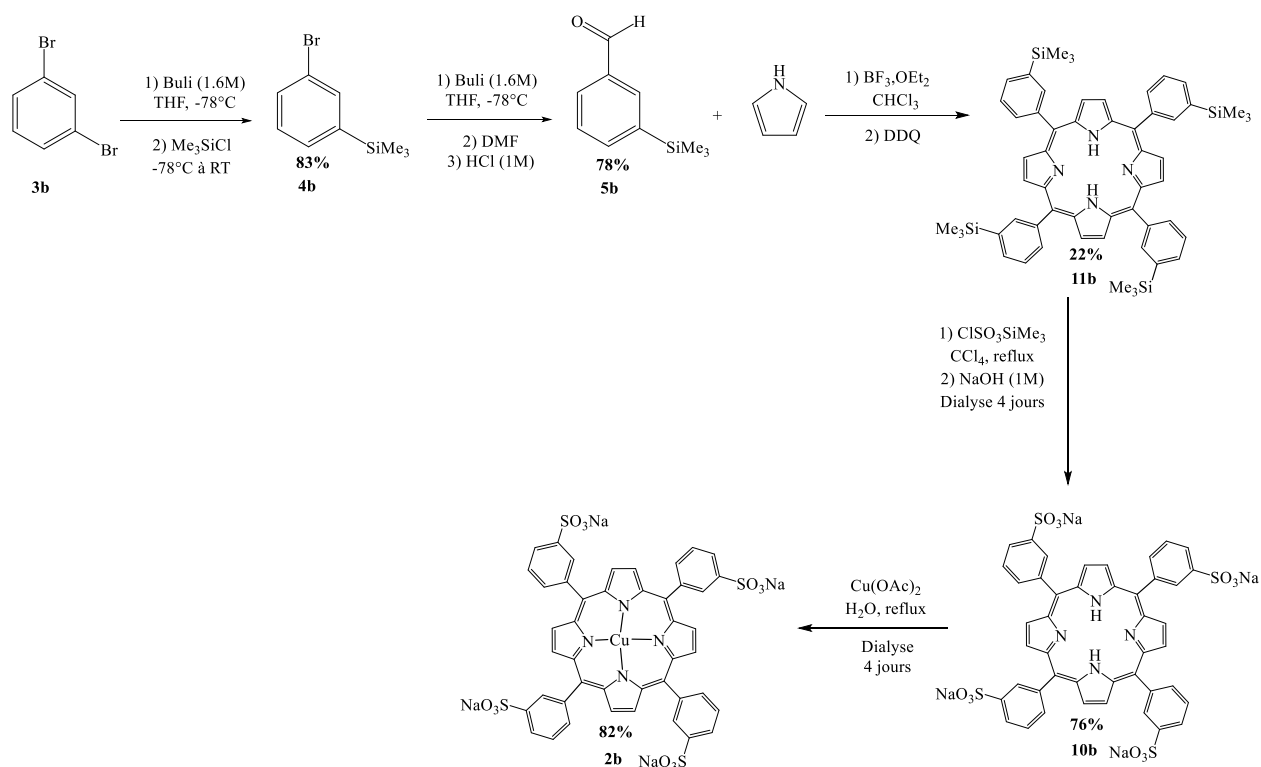


Schéma 4.11 : Synthèse de la porphyrine 2b.

La synthèse des composés **3b**, **4b** et **5b** a déjà été détaillée dans la partie 4.3.1. La porphyrine **11b** a été obtenue en suivant une procédure de Ye & al.¹⁷⁸ La condensation entre l'aldéhyde **5b** et le pyrrole en présence d'éthérate de trifluorure de bore permet de former le noyau porphyrinogène. L'ajout de DDQ permet ensuite d'obtenir la porphyrine **11b** par oxydation. Deux purifications successives sur alumine puis sur gel de silice ont permis d'obtenir la porphyrine **11b** pure avec un rendement de 22%. Le traitement de la porphyrine **11b** avec le triméthylsilylchlorosulfonate, puis la soude, permet d'hydrolyser l'intermédiaire formé et mène à la formation de la porphyrine **10b** avec un rendement de 76%. Enfin, la métallation a été réalisée selon la même procédure que pour la porphyrine **10a** et qui a été détaillée dans la partie 4.3.1. Après purification par dialyse, la porphyrine cuivrée **2b** a été obtenue avec un rendement de 82% et le rendement global de la synthèse est de 9%. Les porphyrines **1a**, **1b**, **2a** et **2b** ont donc été synthétisées et elles ont été caractérisées par spectroscopie UV-Visible et spectrométrie de masse.

4.4 Suivi de complexation de la méthionine par spectroscopie RMN ^1H

Les porphyrines **1a**, **1b**, **2a** et **2b** ayant été synthétisées, nous souhaitons évaluer leur capacité à complexer la méthionine par des expériences de spectroscopie RMN ^1H . Cependant, des tests de solubilité préliminaires avec les porphyrines **1a** et **1b** ont montré que ces composés ne présentent pas une solubilité suffisante dans l'eau pour réaliser les études de complexation par spectroscopie RMN. En effet, pour une concentration en porphyrine de 0,25 mM, les porphyrines ne se dissolvent pas complètement dans l'eau. Les deux substituants sulfonates présents sur les porphyrines **1a** et **1b** ne permettent donc pas de rendre la molécule assez soluble dans les solutions aqueuses. Pour cette raison, les études de complexation de la méthionine par RMN ont été faites avec les porphyrines **2a** et **2b**.

Dans un premier temps, une solution de méthionine à une concentration de 1 mM dans le D_2O est suivie par RMN ^1H en fonction de l'ajout de porphyrine. A chaque ajout, une période de sonication de 10 min a été effectuée et une concentration de 1 mM en porphyrine dans le tube RMN (ratio molaire 1/1 entre la porphyrine et la méthionine) a été atteinte (Figure 4.5).

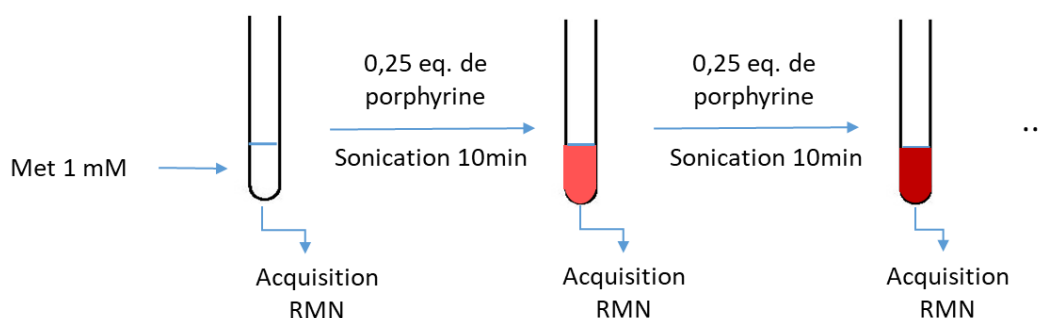


Figure 4.5 : Protocole expérimental utilisé pour l'étude de complexation de la méthionine avec les porphyrines.

Le spectre RMN ^1H de la L-méthionine dans le D_2O présente trois pics distincts (Figure 4.6). Le premier signal autour de 2,2 ppm est un multiplet et correspond aux protons des carbones 1 et 3. Le deuxième signal autour de 2,7 ppm est un triplet et correspond aux protons du carbone 2. Enfin, le troisième signal autour de 3,8 est un doublet de doublet et correspond au proton du carbone 4.

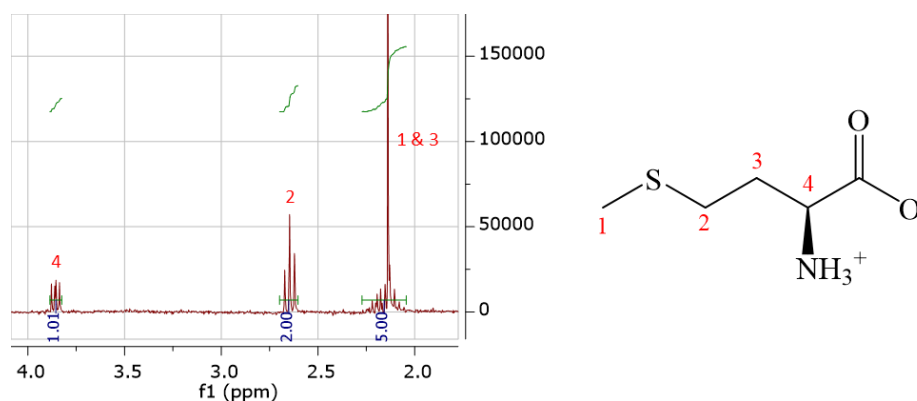


Figure 4.6 : Spectre RMN ^1H de la méthionine dans D_2O et attribution des signaux aux protons de la méthionine.

Lorsque la porphyrine cuivrée est ajoutée à la méthionine, le spectre RMN ^1H obtenu est fortement modifié. En effet, les porphyrines **2a** et **2b** sont paramagnétiques ce qui entraîne un élargissement des pics de la méthionine sur les spectres RMN ^1H . Les intensités des pics ainsi que leur allure peuvent donc être modifiées. Les spectres successifs obtenus après application du protocole expérimental présenté dans le Schéma 4.5 sont présentés dans la Figure 4.7.

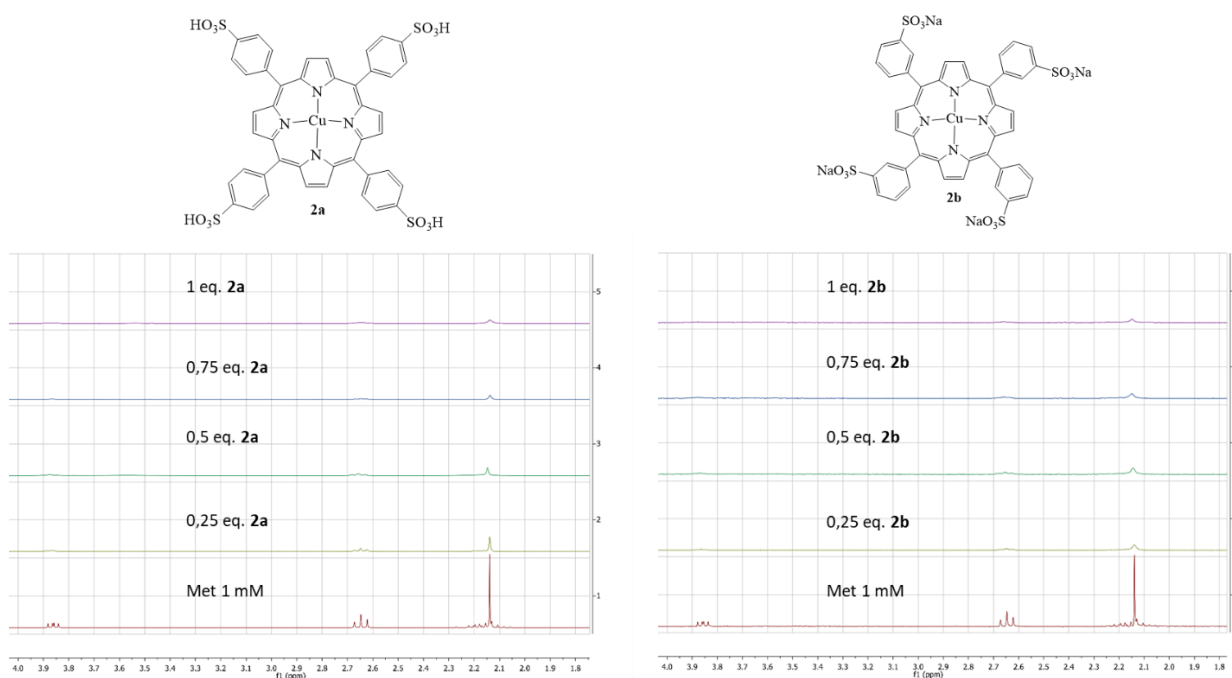


Figure 4.7 : Spectres RMN obtenus après ajouts successifs de la porphyrine **2a** (à gauche) et de la porphyrine **2b** (à droite).

Dans cette figure, les signaux de la méthionine sont très fortement affectés par l'ajout de porphyrine. Un élargissement des pics ainsi qu'une diminution de leur intensité sont observés. Les aires de pics diminuent également au fur et à mesure que la porphyrine est ajoutée. Cela signifie que l'ajout de porphyrine permet de diminuer la concentration en méthionine libre dans l'échantillon. Les aires de pics correspondant aux signaux de la méthionine suite à sa complexation par les porphyrines *para*-substituée **2a** et *mé*ta-substituée **2b** sont présentées dans la Figure 4.8. Le pic 1 correspond au signal de la méthionine le plus blindé (protons portés par les carbones 1 et 3) et le pic 3 correspond au signal le plus déblindé (proton porté par le carbone 4).

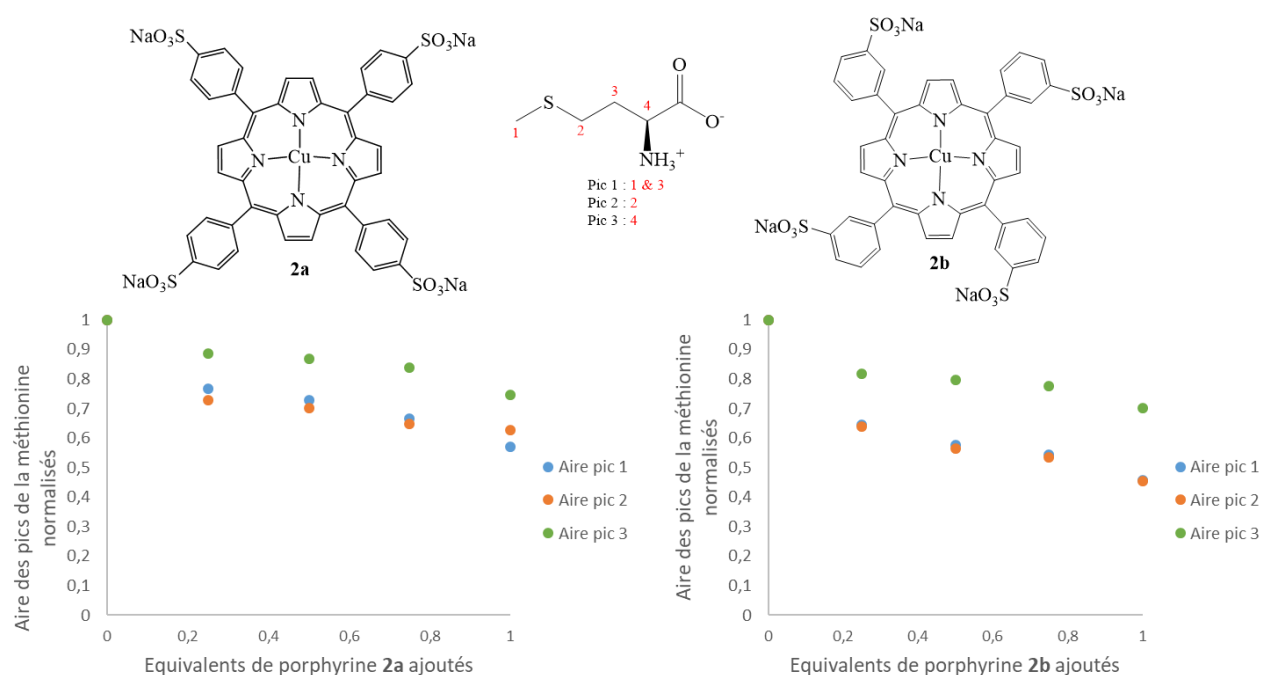


Figure 4.8 : Aires des pics de la méthionine normalisés en fonction du nombre d'équivalents de porphyrine ajoutés. (à gauche) : porphyrine 2a (à droite) : porphyrine 2b.

Dans cette figure, toutes les aires des signaux de la méthionine diminuent dans les deux cas présentés. Dans le cas de la complexation avec la porphyrine **2a**, une diminution de 43% au maximum pour 1 équivalent de porphyrine ajoutée est observée (aire pic 1). Le pic 3 est celui qui est le moins affecté par l'ajout de porphyrine. En effet, son aire diminue de 26% au maximum. Dans le cas de la complexation avec la porphyrine **2b**, une diminution de 55% au maximum pour 1 équivalent de porphyrine ajoutée est observée (aires des pics 1 et 2). Le pic 3 est également moins affecté par l'ajout de porphyrine car son aire diminue de 30% au

maximum. Ce phénomène peut s'expliquer par le fait que le proton correspondant au pic 3 est celui qui est le plus éloigné de l'atome de soufre dans la molécule de méthionine. Il est donc moins affecté que les autres protons car il est plus éloigné du centre paramagnétique de la liaison Cu-S formée lors de la complexation. La porphyrine **2b** semble plus efficace pour complexer la méthionine. En effet, elle permet de diminuer l'aire du pic 1 de 55% contrairement à la porphyrine **2a** qui la diminue de 43%. Cela peut s'expliquer par la forte proximité entre la porphyrine **2b** et la méthionine lors de la formation du complexe. Les interactions électrostatiques entre le groupement ammonium de la méthionine et les groupements sulfonates de la porphyrine rapprochent la méthionine du centre métallique ce qui entraîne une complexation plus efficace dans le cas de la porphyrine *mé*ta-substituée.

Afin de déterminer les paramètres thermodynamiques de la formation du complexe porphyrine-méthionine, un dosage selon le protocole expérimental présenté dans la Figure 4.9 a été réalisé.

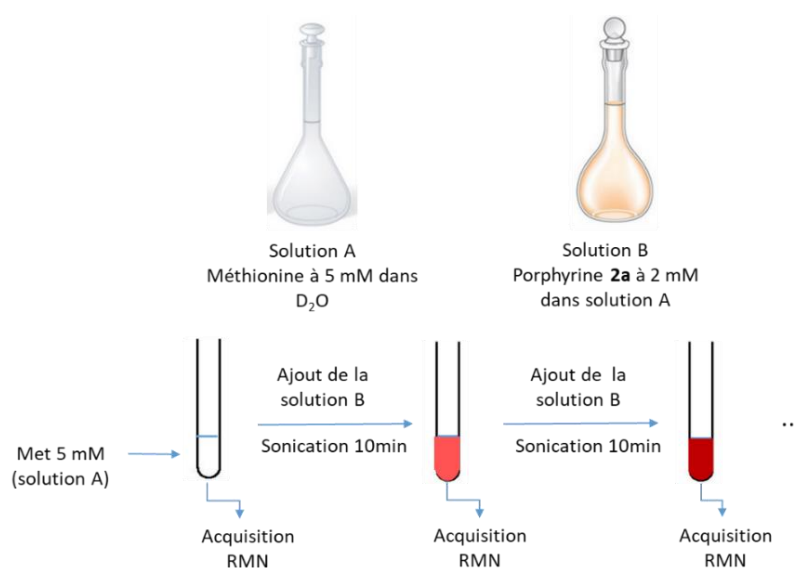


Figure 4.9 : Protocole expérimental utilisé pour le dosage de la méthionine par la porphyrine **2a**.

La solution A contenant la méthionine à une concentration de 5 mM a été mise dans un tube RMN. La solution B contenant la porphyrine **2a** à une concentration de 2 mM dans la solution A a ensuite été progressivement ajoutée au tube et des spectres RMN ¹H ont été mesurés au cours du temps après une période de sonication de 10 min entre chaque ajout. Ce protocole expérimental permet d'avoir une concentration en méthionine constante dans le

tube RMN. Les valeurs des aires de pics de la méthionine sur le spectre RMN correspondent donc exclusivement à la méthionine libre en solution. Les résultats obtenus pour le pic 1 de la méthionine sont présentés dans la Figure 4.10 ci-dessous.

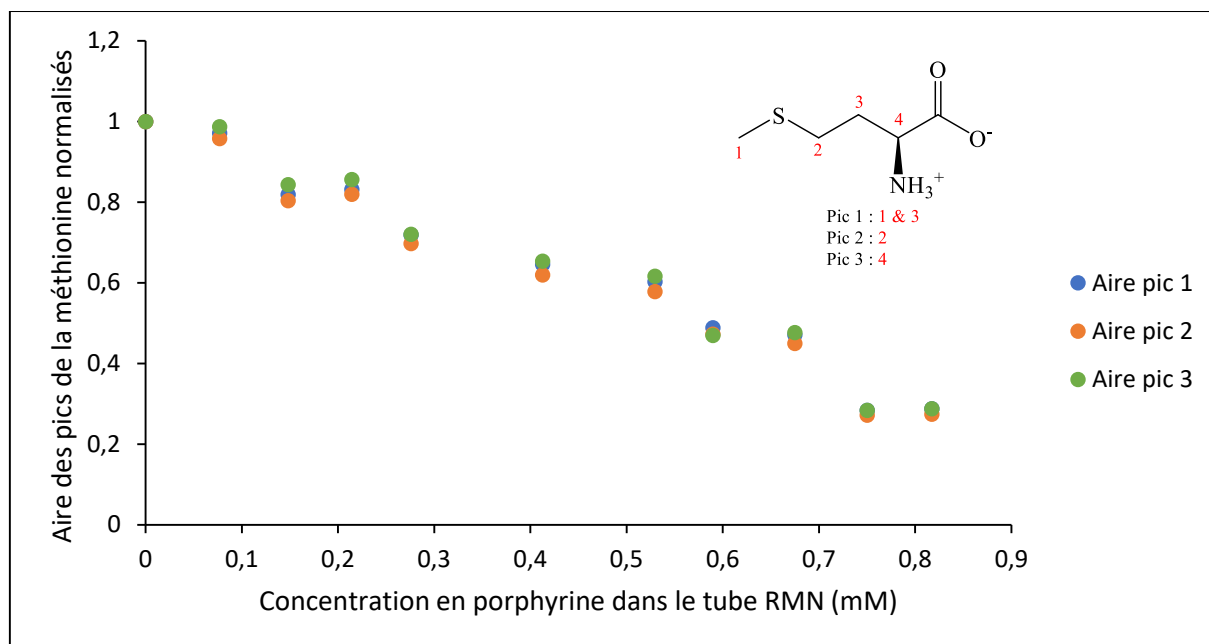


Figure 4.10 : Aire des pics de la méthionine normalisés en fonction de la concentration finale en porphyrine dans le tube RMN.

Une diminution de l'aire des pics de la méthionine est observée lorsque la porphyrine **2a** est progressivement ajoutée. Ainsi, pour une concentration en porphyrine finale de 0,82 mM, l'aire du pic 1 de la méthionine diminue de 74%. La concentration en méthionine dans le tube RMN étant de 5 mM, ces résultats suggèrent qu'une molécule de porphyrine permet de complexer jusqu'à 4 molécules de méthionine. Les allures de courbe ainsi que les pourcentages de diminution des aires obtenues pour les pics 2 et 3 de la méthionine sont similaires à celles du pic 1. Cependant, des variations des aires mesurées sont observées en fonction du temps d'équilibre avant analyse. En effet, l'équilibre de complexation est difficile à atteindre, même lorsque l'acquisition du spectre RMN est réalisée 24h après l'ajout de la porphyrine. Cela peut s'expliquer par la formation de dimères et d'agrégats de porphyrines en solution aqueuse. En effet, comme cela a été présenté dans la partie 4.2, les porphyrines peuvent s'agréger en solution aqueuse lorsque la concentration dans l'échantillon est importante. Typiquement, une concentration de l'ordre du millimolaire en porphyrine cuivrée peut entraîner la formation de dimères en solution aqueuse. L'ajout de méthionine à une

solution contenant la porphyrine peut perturber l'équilibre des espèces présentes en solution. La constante d'association entre les porphyrines et la méthionine a été estimée à $10^5 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$ à partir d'un modèle dans lequel un seul site d'association est présent.

4.5 Suivi de complexation de la méthionine par spectroscopie UV-Visible

Le spectre UV-Visible des porphyrines peut subir des modifications lorsque des ligands sont ajoutés aux échantillons. En effet, des déplacements bathochromes ou hypsochromes de la bande de Soret et des bandes Q peuvent être observés.^{188,189} En 1978, Nappa & al. ont publié une étude sur l'effet de l'ajout de ligands imidazolates ou thiolates sur le spectre d'absorption de la tétraphénylporphyrine de zinc (ZnTPP) dans les solvants organiques.¹⁹⁰ Les auteurs ont montré que l'ajout de ces ligands entraînait un déplacement du spectre d'absorption vers le rouge ainsi qu'une diminution du coefficient d'absorption molaire de la porphyrine. Cet effet est dû à la formation d'une liaison zinc-ligand ainsi qu'à la présence d'espèces chargées sur le ligand. Ainsi, plus la polarisabilité et la charge du ligand est élevée et plus le déplacement bathochrome est important. Cela s'explique par un transfert de charge du ligand vers la porphyrine.

Afin de déterminer si un phénomène similaire était observé lors de la complexation de la méthionine avec les porphyrines cuivrées, un suivi cinétique par UV-Visible a été réalisé. Pour cela, le spectre d'absorption d'une solution contenant la porphyrine **2a** à une concentration de $9 \mu\text{M}$ dans l'eau ultra-pure a été mesuré puis la méthionine à une concentration de $0,4 \text{ mM}$ a été ajoutée à l'échantillon. Des spectres successifs ont ensuite été mesurés au cours du temps. Les résultats sont présentés dans la Figure 4.11.

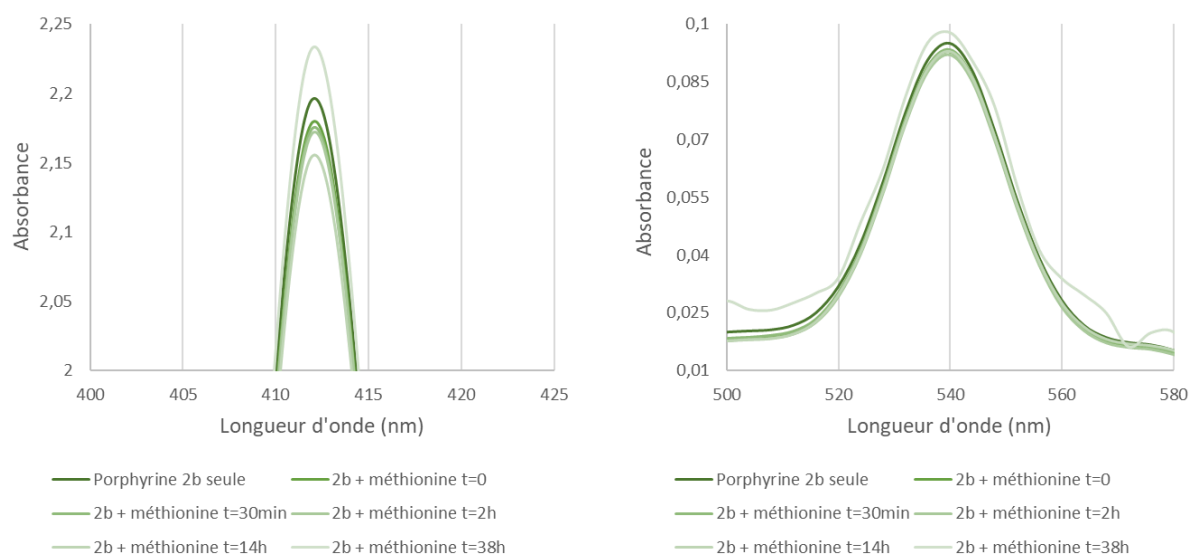


Figure 4.11 : Ajout de méthionine et variations d'absorbance de la bande de Soret (à gauche) et de la bande Q (à droite) de la porphyrine 2b en fonction du temps.

Comme l'indique cette figure, l'absorbance correspondant à la bande de Soret diminue de 0,04 lors de l'ajout de méthionine à $t = 0$. Cette diminution continue jusqu'à $t = 14$ h pour atteindre un minimum d'absorbance de 2,15, soit une perte de 0,1 d'absorbance. Un phénomène similaire est observé pour la bande Q la plus intense. Aucun déplacement bathochrome ou hypsochrome n'est observé au cours du temps. A $t = 38$ h, une augmentation de l'absorbance de la bande de Soret et de la bande Q est observée. Une modification de l'allure de la bande Q est également constatée. Ce phénomène peut s'expliquer par une modification de la structure des porphyrines. En effet, comme cela a été présenté dans la partie 4.2.2, les porphyrines sont susceptibles de former des dimères ou de petits agrégats dans les conditions expérimentales utilisées. Entre $t = 0$ et $t = 14$ h, la faible diminution d'absorbance peut être due à la complexation de la méthionine. A $t = 38$ h, la présence de méthionine pourrait modifier la configuration des porphyrines en solution en dissociant certains dimères. Cela expliquerait le changement d'allure de la bande Q ainsi que l'augmentation de l'absorbance de la bande de Soret. En effet, les dimères de porphyrine ont un coefficient d'absorption molaire plus faible que les monomères.¹⁷⁷

Cette expérience a permis de montrer que l'ajout de méthionine à la porphyrine **2b** entraîne de très faibles modifications dans le spectre d'absorption de la porphyrine **2b**. L'équilibre de complexation entre la méthionine et les porphyrines hydrosolubles est donc

difficile à atteindre du fait de l'organisation complexe des porphyrines en solution aqueuse. Aucun déplacement bathochrome du spectre n'a pu être mis en évidence lors de cette étude.

4.6 Complexation de la tétraphénylporphyrine cuivrée avec des molécules soufrées dans le chloroforme deutéré

Les porphyrines hydrosolubles cuivrées sont paramagnétiques et entraînent un élargissement de tous les signaux de la méthionine sur le spectre RMN ^1H . En effet, la complexation de la méthionine est due à la coordination de l'atome de soufre au cuivre de la porphyrine mais également à des interactions électrostatiques entre les substituants sulfonates de la porphyrine et le groupement ammonium de la méthionine. Afin d'étudier si les molécules soufrées peuvent se lier à l'atome de cuivre des porphyrines métallées, nous avons étudié la complexation d'un ligand thioéther avec la tétraphénylporphyrine cuivrée (CuTPP) par RMN ^1H dans le chloroforme deutéré. Cette expérience permet de déterminer si les pics RMN correspondant aux protons du ligand thioéther sont affectés par l'effet paramagnétique de la porphyrine en absence d'interactions électrostatiques.

Tout d'abord la CuTPP a été synthétisée. La tétraphénylporphyrine étant disponible commercialement, il fallait incorporer l'atome de cuivre par une réaction de métallation pour obtenir la porphyrine voulue. Cette réaction a été faite selon une procédure de Campbell & al. (Schéma 4.12).¹⁹¹

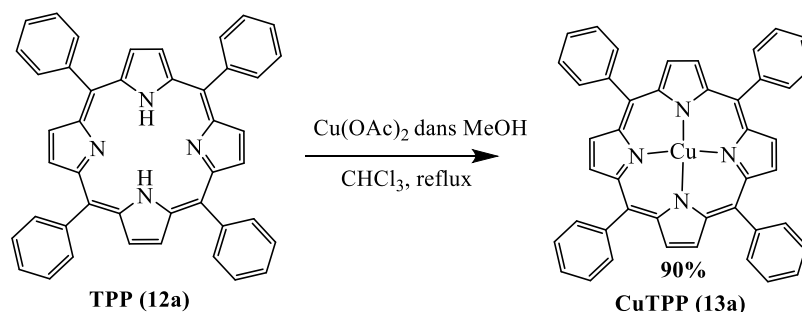


Schéma 4.12 : Métallation de la CuTPP avec l'acétate de cuivre (II).

Une solution d'acétate de cuivre (II) diluée dans du méthanol a été ajoutée au milieu réactionnel contenant la TPP dans le chloroforme. Après 45 min de réaction, la tache correspondant à la TPP sur la plaque CCM a complètement disparu. Lors du refroidissement à température ambiante, l'ajout de méthanol précipite le produit qui est obtenu avec un rendement de 90% et qui est caractérisé par UV-Vis.

Afin de montrer que la CuTPP peut former une liaison avec l'atome de soufre présent dans les thioéthers, une étude par spectroscopie RMN ^1H a été réalisée. Des spectres RMN ^1H du 1-(méthylthio)pentane à 1 mM ont été mesurés avant et après l'ajout de CuTPP à une concentration de 5mM. Les résultats sont présentés dans la Figure 4.12 ci-dessous.

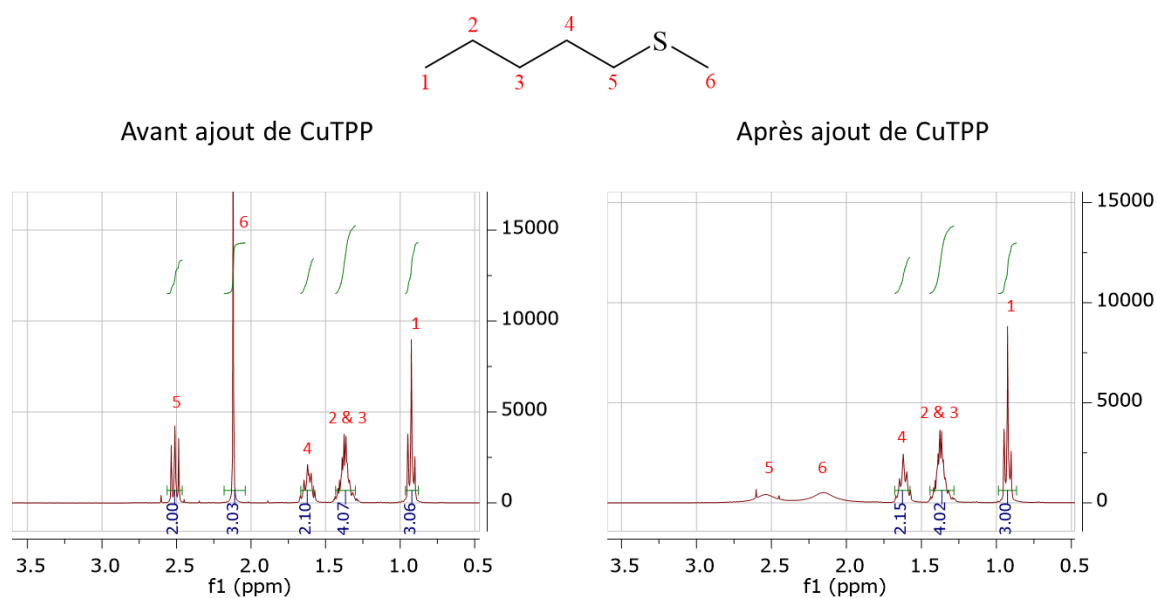


Figure 4.12 : Spectres RMN ^1H du 1-(méthylthio)pentane. (à gauche) : avant ajout de CuTPP. (à droite) : après ajout de CuTPP.

Comme l'indique cette figure, après ajout de CuTPP afin d'atteindre une concentration de 1mM dans le tube RMN, les signaux correspondant aux protons des carbones 5 et 6 sont élargis et leur aire diminue. Au contraire, les signaux correspondant aux protons des carbones 1 à 4 ne sont presque pas affectés par l'ajout de CuTPP. La porphyrine a donc un effet sur les protons des carbones adjacents à l'atome de soufre. Ces résultats montrent que des interactions existent entre l'atome de soufre du 1-(méthylthio)pentane et l'atome de cuivre de la CuTPP. Les signaux des carbones 1 à 4 ne sont pas affectés par l'effet paramagnétique de la porphyrine car ils ne sont pas à proximité de la porphyrine. Dans le cas de la complexation

de la méthionine avec les porphyrines **2a** et **2b**, tous les signaux de la méthionine sont affectés par l'environnement paramagnétique de la porphyrine. Cela prouve l'importance des interactions électrostatiques entre les substituants sulfonates des porphyrines **2a** et **2b** et le groupement ammonium de la méthionine. Ces interactions électrostatiques permettent de complexer efficacement la méthionine en la gardant à proximité de la porphyrine.

4.7 Synthèse de résines à base de porphyrines et complexation de la méthionine (travaux effectués par le Dr. James Findlay).

4.7.1 Synthèse des résines

En se basant sur les résultats ci-dessous, la synthèse d'une résine à base de porphyrines a été mise en œuvre. Comme cela a été présenté dans la partie 4.2.1, la résine doit contenir de nombreux pores et doit adsorber la méthionine efficacement. De plus, elle doit être insoluble dans les solutions hydro-alcooliques et elle doit être sélective de la méthionine. Les expériences présentées dans ce chapitre sur la complexation de la méthionine avec les porphyrines hydrosolubles **2a** et **2b** ont montré qu'il est possible de former des complexes porphyrine-méthionine par des interactions cuivre-soufre et des interactions électrostatiques. En utilisant ce type de composés, les espèces soufrées ioniques devraient donc être sélectivement adsorbées par la résine par rapport à d'autres molécules présentes dans les vins et les Champagnes.

Plusieurs schémas de synthèse des résines ont été étudiés. Tout d'abord, la synthèse d'un polymère linéaire à base de porphyrines similaires aux composés **1a** et **1b** a été faite. Afin de pouvoir polymériser les porphyrines obtenues, les substituants phényles ont été remplacés par des substituants 3,4-hydroxyphényles (Schéma 4.13).

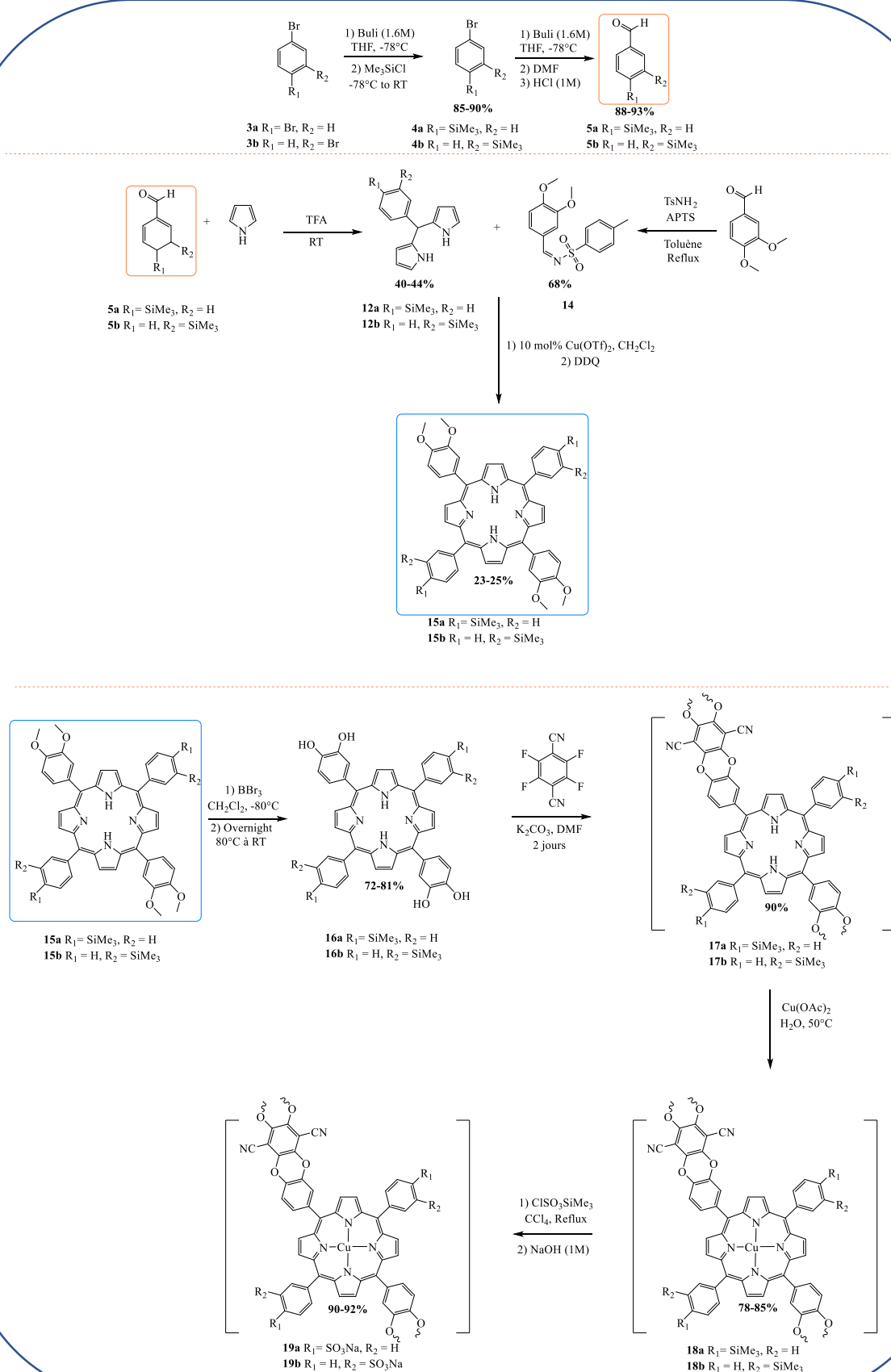


Schéma 4.13 : Synthèse des polymères 19a et 19b linéairement branchés.

La synthèse des composés **5a** et **5b** a été faite selon le même schéma réactionnel que celui présenté dans la partie 4.2. Les 5-triméthylsilylphényldipyrrométhanés **12a** et **12b** ont été respectivement synthétisés à partir des aldéhydes **5a** et **5b** et de pyrrole selon un protocole de Swamy & al.¹⁹² Le diméthoxybenzaldéhyde a été transformé en *N*-tosylimine **14** en présence de TsNH₂ et d'APTS et la réaction entre les composés **12a** et **12b** avec le composé **14** a permis d'obtenir les porphyrines **15a** et **15**. Les substituants 3,4-méthoxyles ont ensuite été hydrolysés en groupements 3,4-hydroxyles pour former les porphyrines **16a** et **16b**. Ces composés ont ensuite été polymérisés en présence de 2,3,5,6-tétrafluorotéréphthalonitrile et de carbonate de potassium dans le DMF afin d'obtenir les composés **17a** et **17b**. Ces polymères ont ensuite été métallés avec de l'acétate de cuivre (II) dans l'eau. Enfin, les composés finaux **19a** et **19b** ont été obtenus par une réaction de sulfonation des substituants triméthylsilyles avec du triméthylsilylchlorosulfonate. Le rendement global de la synthèse est de 4,5% pour le composé **19a** et 3,9% pour le composé **19b**. Ces composés ont été caractérisés par spectroscopie RMN, spectroscopie UV-Visible et ESI-MS. Des polymères à base de porphyrines de type A₂B₂ avec des substituants sulfonates et hydroxyles ont donc été synthétisés.

Cette synthèse convergente présente le désavantage d'être longue et coûteuse. C'est pourquoi une voie de synthèse alternative a été développée (Schéma 4.14).

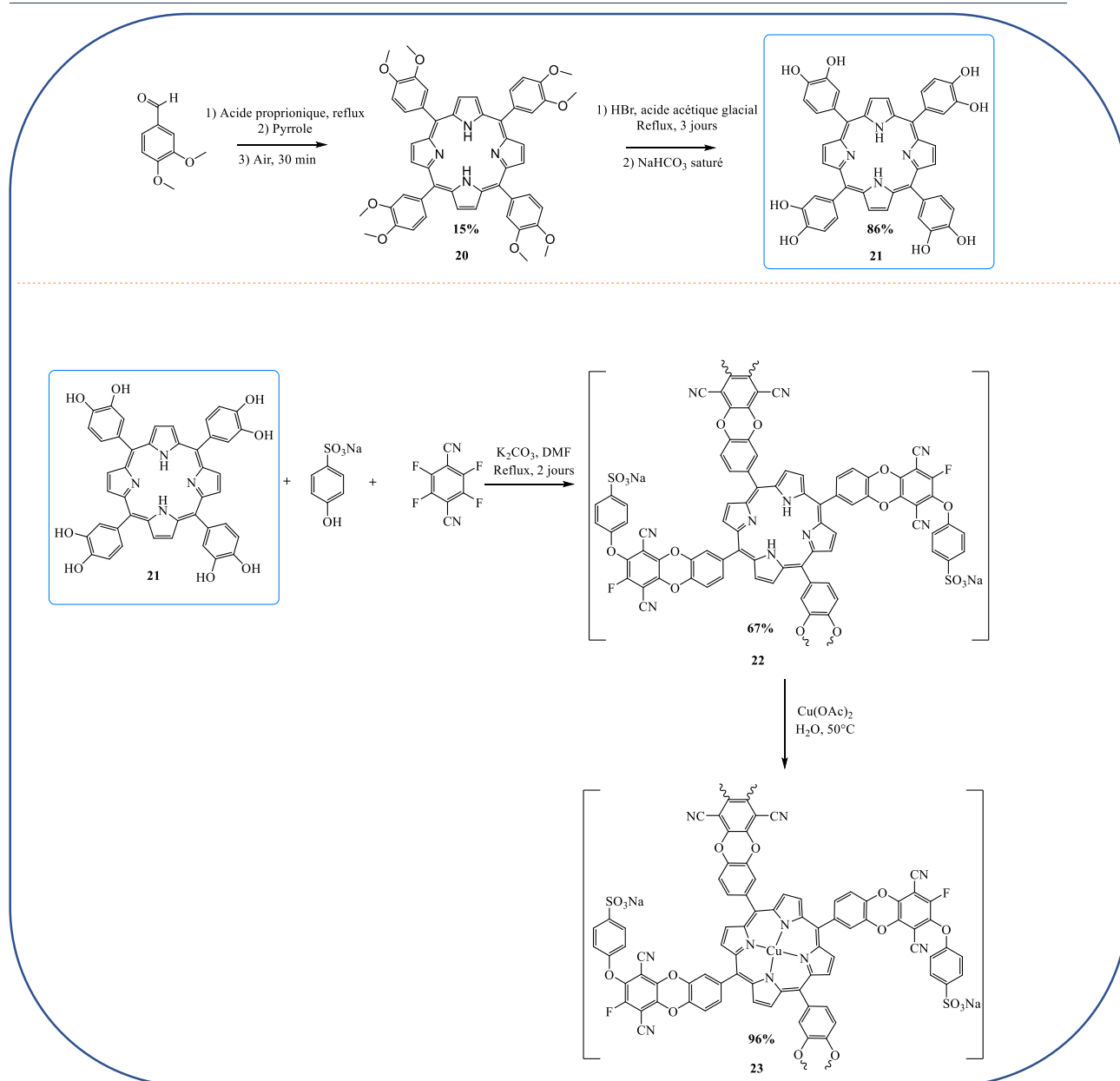


Schéma 4.14 : synthèse de la résine 23.

La condensation du 3,4-diméthoxybenzaldéhyde avec le pyrrole en présence d'acide propionique mène à la formation de la porphyrine tétra-substitué **20**. Les substituants méthoxyles sont ensuite hydrolysés en groupements hydroxyles par réaction avec le bromure d'hydrogène en présence d'acide acétique glacial afin d'obtenir le composé **21**. La résine branchée aléatoirement **22** peut être directement obtenue par réaction entre **21**, le 4-phénylesulfonate et le 2,3,5,6-tétrafluorotéréphthalonitrile en présence de carbonate de potassium. La métallation du composé **22** est ensuite réalisée avec de l'acétate de cuivre (II) afin de former la résine finale **23** avec un rendement de synthèse global égal à 8,2%.

Puisque les chaînes polymères sont branchées aléatoirement, la porosité de cette résine pourrait être plus importante que celle des composés **19a** et **19b**.

4.7.2 Etude de complexation de la méthionine par RMN ^1H avec les résines synthétisées

Selon un protocole expérimental analogue à celui présenté dans la partie 4.4, la complexation de la méthionine avec la résine **23** a été étudiée. Dans un premier temps, une solution de méthionine à une concentration de 2 mM dans le D_2O est suivie par RMN ^1H en fonction de l'ajout de porphyrine. A chaque ajout, une période de sonication de 10 min a été effectuée et une concentration de 2 mM en porphyrine dans le tube RMN (ratio molaire 1/1 entre la résine et la méthionine) a été atteinte (Figure 4.13). Un motif de la résine ($M = 1656 \text{ g.mol}^{-1}$) correspond à un équivalent.

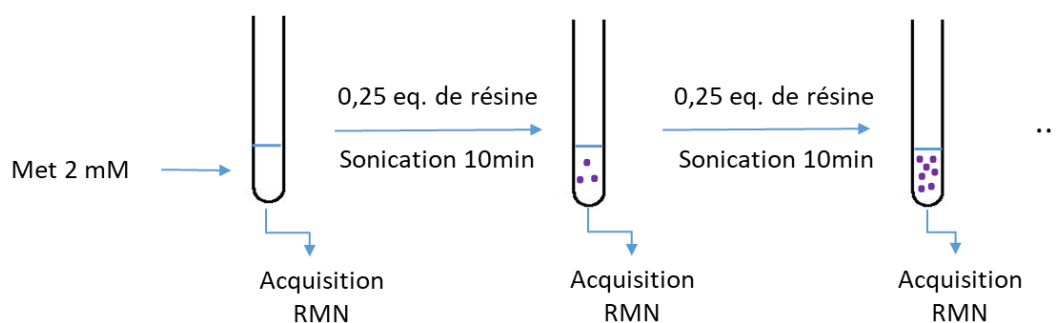


Figure 4.13 : Protocole expérimental utilisé pour l'étude de la complexation de la méthionine avec la résine 23.

Cette étude a également été faite avec la résine **22**, c'est-à-dire avec le composé qui ne comporte pas d'atome de cuivre au centre du motif porphyrine. Cette expérience permet de montrer que les interactions électrostatiques peuvent suffire à complexer une partie de la méthionine. De plus, en l'absence de l'atome de cuivre, le composé **22** n'est pas paramagnétique et les pics de la méthionine ne sont donc pas élargis sur le spectre RMN. Les résultats sont présentés dans la Figure 4.14 ci-dessous.

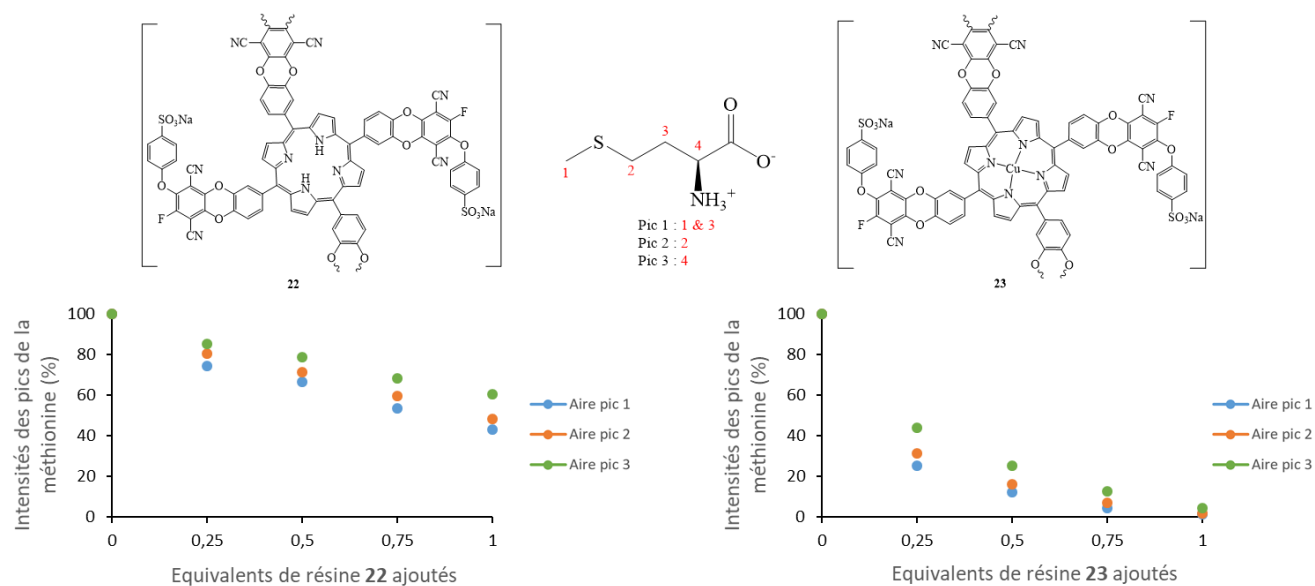


Figure 4.14 : Intensités de pics de la méthionine normalisés en fonction du nombre d'équivalents de résine ajoutés. (à gauche) : résine 22 (à droite) : résine 23.

Comme l'indique le graphique à gauche de la Figure 4.14, les intensités des pics de la méthionine diminuent lorsque la résine **22** est ajoutée dans le tube RMN. Pour un équivalent de résine ajoutée, l'intensité du pic 1 diminue de près de 60%. Cela signifie donc que la résine peut adsorber la méthionine en absence de l'atome de cuivre. Ce résultat peut s'expliquer par les interactions électrostatiques existant entre les groupements sulfonates de la résine et le groupement ammonium de la méthionine. De plus, la résine contient de nombreux pores et la méthionine peut donc être piégée à l'intérieur des pores. Le pic 3 de la méthionine est celui qui est le moins affecté par l'ajout de la résine et une diminution de 40% est observée. Ce phénomène avait déjà été observé lors de la complexation de la méthionine avec les porphyrines hydrosolubles. Même en absence de cuivre, les pics 1 et 2 de la méthionine sont plus affectés par l'ajout de résine. Ces résultats confirment que la résine est efficace pour l'adsorption de méthionine. En effet, malgré l'absence d'effet paramagnétique lié à la présence du cuivre, une diminution de l'intensité des pics de la méthionine est observée.

Le graphique à droite de la Figure 4.14 montre l'évolution de l'intensité des pics de la méthionine lorsque la résine cuivrée **23** est ajoutée dans le tube RMN. L'adsorption de la méthionine est plus efficace dans ce cas. En effet, pour 0,25 équivalents de résine **23** ajoutée, l'intensité du pic 1 de la méthionine diminue de 75% contre 25% dans le cas précédent. Lorsqu'un équivalent de la résine **23** est ajouté, les pics de la méthionine ont pratiquement

disparu. La résine **23** est donc beaucoup plus efficace que la résine **22** pour l'adsorption de méthionine ce qui montre l'importance des liaisons Cu-S.

Des expériences de complexation de la méthionine avec les mêmes conditions expérimentales ont également été faites avec les polymères **19a** et **19b**. L'intensité des pics de la méthionine diminue de 39% et 86% respectivement pour un équivalent de polymère ajouté. Cela signifie que lorsque les substituants sulfonates se trouvent en position *mé*ta, la complexation de la méthionine est plus efficace. Ce résultat peut être expliqué par la plus grande proximité entre la méthionine et la porphyrine lors de la formation du complexe. En effet, les interactions électrostatiques entre les groupements sulfonates et le groupement ammonium permettent d'adsorber plus efficacement la méthionine lorsque les groupements sulfonates sont en position *mé*ta. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans la partie 4.4.

4.8 Conclusion du chapitre 4

Les porphyrines **1a**, **1b**, **2a** et **2b** contenant des substituants sulfonates ont été synthétisées. Les *mé*so-porphyrines **1a** et **1b** ont été obtenues avec de faibles rendements mais en évitant le phénomène de « scrambling ». En effet, la condensation entre les dérivés *N*-tosylimines et le 5-phényldipyrométhane a permis d'éviter ce problème. Cependant, les porphyrines **1a** et **1b** ne sont pas assez solubles dans l'eau pour réaliser les expériences de complexation avec la méthionine. Ces études ont donc été réalisées avec les porphyrines **2a** et **2b** contenant quatre substituants anioniques. Nous avons montré que ces porphyrines peuvent complexer la méthionine. En effet, les expériences par spectroscopie RMN ¹H ont mis en évidence que tous les signaux de la méthionine sont affectés par l'ajout des porphyrines **2a** et **2b**.

L'élargissement des pics résultant de l'effet paramagnétique de la porphyrine cuivrée ainsi que la formation de dimères et d'agrégats de porphyrines en solution aqueuse ont rendu difficile la mesure des constantes d'association entre la méthionine et la porphyrine car il n'a

pas été possible d'atteindre un équilibre de formation du complexe. Cependant, les intensités et les aires des pics de la méthionine diminuent lors de l'ajout des porphyrines cuivrées. La porphyrine *méta* substituée **2b** semble être plus efficace pour complexer la méthionine que la porphyrine *para* substituée **2a**. De plus, l'étude de complexation de la méthionine avec la CuTPP dans le chloroforme deutéré par spectroscopie RMN ^1H a permis de mettre en évidence l'importance des interactions électrostatiques. En effet, en absence de groupements ioniques, seuls les signaux correspondant aux protons proches de l'atome de soufre du 1-(méthylthio)pentane sont affectés par l'ajout de CuTPP. La complexation de la méthionine se fait donc au travers de la formation de liaisons soufre-cuivre et d'interactions électrostatiques.

Des résines poreuses à base de porphyrines et permettant l'adsorption de méthionine ont été synthétisées. Bien que la structure exacte de l'édifice chimique formé n'ait pas encore été déterminée, l'efficacité de la résine à complexer la méthionine a été évaluée par RMN ^1H . Comme pour les porphyrines hydrosolubles, une diminution des intensités et des aires de pics de la méthionine a été observée lors de l'ajout de la résine à une solution contenant de la méthionine. La résine contenant les substituants sulfonates en position *méta* (**19b**) a montré une plus grande efficacité pour l'adsorption de méthionine que la résine contenant les substituants sulfonates en position *para* (**19a**). La résine synthétisée selon le schéma réactionnel optimisé du Schéma 4.14 (composé **23**) est aussi efficace pour la complexation de la méthionine que le polymère **19b**. Une étude de complexation entre la résine **23** et un dérivé fluorescent de la méthionine est actuellement en cours. Cette expérience permettra de suivre la diminution de l'absorbance et de la fluorescence de la méthionine modifiée lors de l'ajout de résine. Les résultats préliminaires de cette étude montrent que la méthionine fluorescente est effectivement complexée par la résine mais les temps d'équilibre sont longs (supérieurs à 12h).

Des études sur la taille, la distribution ou encore la porosité de la résine sont en cours de développement. Il serait également intéressant de déterminer si la résine relargue des composés organiques dans les matrices hydro-alcooliques ainsi que sa sélectivité vis-à-vis des différents acides aminés.

Chapitre 5 : Vers l'utilisation de solutions authentiques

5.1 Introduction

Les études mécanistiques effectuées sur des solutions modèles présentées dans le chapitre 2 de ce rapport de thèse ont permis d'apporter des réponses quant à la compréhension de la formation des espèces soufrées volatiles. Cependant, de nombreuses espèces chimiques supplémentaires sont présentes dans le Champagne authentique. Parmi celles-ci, on trouve les polyols, les protéines, les peptides, les lipides, les acides organiques, des composés volatiles parfois présents à de très faibles concentrations ainsi que des polyphénols.¹⁹³ De plus, la quantité réelle en riboflavine dans le vin ou le Champagne est bien plus faible que les concentrations utilisées dans le chapitre 2 et varient entre 8 et 320 µg/L selon la méthode de vinification ainsi que le type de levures.^{43,45,194} Les Champagnes utilisés pour les expériences présentées dans ce chapitre de thèse nous ont été fournis par G.H.Mumm. Ce sont des Champagnes commerciaux présents dans des centres de distribution classiques. Ainsi, pour toutes les expériences, des lots similaires de Champagne ont été utilisés afin d'avoir peu de variation dans leur composition.

Dans cette partie, des résultats issus d'études sur le Champagne sont présentés. Tout d'abord, nous avons établi des courbes d'étalonnage en adéquation avec les concentrations en produits soufrés volatiles qui peuvent être trouvées dans les vins et les Champagnes. Dans les vins blancs, les concentrations en méthaneéthiol sont comprises entre 0 et 16 µg/L et les concentrations en DMDS entre 0 et 22 µg/L.⁵³ Il est également important de connaître les seuils de perception de ces espèces chimiques en intégrant des analyses sensorielles à ces études. Les seuils de perception dans la littérature peuvent varier en fonction du type de produit étudié. Ainsi, pour des solutions modèles de vin, le méthaneéthiol aurait un seuil de perception de 0,3 µg/L et le DMDS de 2,5 µg/L.^{53,195} Dans les vins blancs authentiques, les seuils de perception peuvent être plus élevés : entre 1,8 et 3,1 µg/L pour le méthaneéthiol⁵¹ et entre 20 et 45 µg/L pour le DMDS⁵³. Le seuil de perception du DMDS est donc plus élevé que celui du méthaneéthiol.

Dans cette étude, les concentrations en produits soufrés volatils formés dans le Champagne ont été déterminées après irradiation avec un simulateur solaire de vieillissement

Suntest XLS⁺ (Atlas MTS[®]). Les irradiations ont été faites à Reims au sein de l'entreprise G.H.Mumm et des analyses sensorielles ont été réalisées en parallèle afin d'établir des corrélations entre les quantités d'espèces soufrées volatiles mesurées et le ressenti perçu par un panel d'experts. Afin de pouvoir réaliser des irradiations au sein de notre laboratoire, nous avons également fait l'acquisition d'un simulateur solaire de vieillissement Suntest Q-Sun 1000 (Q-Lab[®]). Une optimisation des conditions d'irradiation ainsi que des analyses sur Champagnes ont permis de mieux comprendre le mécanisme de formation des espèces soufrées volatiles.

L'efficacité de la résine à base de porphyrines cuivrées présentée dans le chapitre 4 a été évaluée. Pour cela, les concentrations en espèces soufrées volatiles formées après avoir agité le Champagne en présence de différentes quantités de résine ont été mesurées. Un suivi cinétique a également été réalisé afin de déterminer quel était le temps nécessaire pour complexer un maximum de méthionine avec la résine.

5.2 Courbes d'étalonnage des espèces soufrées volatiles dans des solutions authentiques de Champagne

Afin de pouvoir quantifier les espèces soufrées volatiles formées lors des études sur le Champagne authentique, il est nécessaire de réaliser des courbes d'étalonnage pour chaque composé analysé dans cette matrice. Des analyses préliminaires sur des échantillons de Champagne irradiés ont mis en évidence la présence de méthaneéthiol et de DMDS mais pas de DMTS. Seules des courbes d'étalonnage pour ces deux premières espèces ont donc été réalisées. Les quantités en méthaneéthiol et en DMDS formées dans le Champagne étant bien plus faibles que celles mesurées lors de l'étude mécanistique et photochimique présentée dans le chapitre 2 de ce rapport de thèse, il était nécessaire de modifier la méthode analytique employée jusqu'à présent. En effet, le mode split avec un ratio 200/1 était utilisé pour les expériences avec les solutions modèles car les concentrations en méthaneéthiol et DMDS étaient élevées (entre 10^{-5} M et 10^{-6} M). Lors des premiers essais d'irradiation sur du

Champagne en split 200, aucun pic correspondant au méthaneéthiol et au DMDS n'a été observé. Après plusieurs essais infructueux d'optimisation de la méthode analytique en faisant varier les ratios de split, le mode splitless a été utilisé. Ce mode d'injection a permis d'obtenir des aires de pics suffisantes à la fois pour le méthaneéthiol et le DMDS. En effet, le DMDS est présent en très faible quantité dans les échantillons de Champagne et il est donc nécessaire d'utiliser le mode splitless pour l'analyser. Les courbes d'étalonnage présentées ci-dessous ont été faites avec un Champagne fraîchement ouvert sur des gammes de concentration comprises entre 10^{-8} et 10^{-7} M pour le méthaneéthiol et entre 5×10^{-10} M et 5×10^{-9} M pour le DMDS. Afin de s'affranchir d'éventuelles erreurs liées à la fragilité de la fibre SPME, le DTA à une concentration finale de 10^{-8} M dans l'échantillon a également été ajouté.

Des échantillons contenant du méthaneéthiol et d'autres échantillons contenant du DMDS à des concentrations différentes ont été analysés et les données ont été modélisées par une régression linéaire. L'oxydation du méthaneéthiol en DMDS pouvant entraîner la formation de signaux distincts, il est nécessaire de réaliser les courbes d'étalonnage de ces composés séparément. Le Champagne non irradié contenant du méthaneéthiol, l'ajout de quantités connues de méthaneéthiol a permis de déterminer sa concentration initiale et de tracer des droites d'étalonnage. De plus, pour chaque concentration utilisée pour réaliser la courbe de calibration, deux mesures ont été effectuées sur des échantillons différents. Le protocole complet utilisé pour réaliser les courbes d'étalonnage ainsi que les paramètres de la méthode d'analyse SPME-GC-PFPD sont détaillés dans la partie expérimentale. Les courbes d'étalonnage obtenues sont présentées ci-dessous (Figure 5.1 et Figure 5.2).

Courbe d'étalonnage du DMDS :

$$[DMDS](mol/L) = \left[\frac{Aire\ DMDS}{Aire\ DTA} \times 0,8508 + 0,0073 \right] \times [DTA] (mol/L)$$

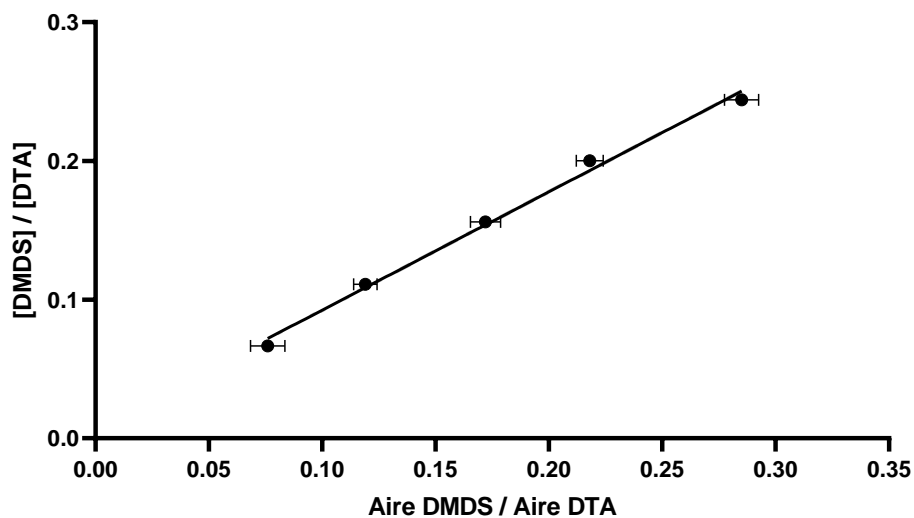


Figure 5.1 : Courbe d'étalonnage du DMDS dans le Champagne en mode splitless ($R^2 = 0,993$). 2 mesures sur des échantillons différents pour chaque concentration.

Courbe d'étalonnage du méthaneithiol :

$$[MeSH] (mol/L) = \left[\frac{Aire\ MeSH}{Aire\ DTA} \times 7,3338 - 0,0416 \right] \times [DTA](mol/L)$$

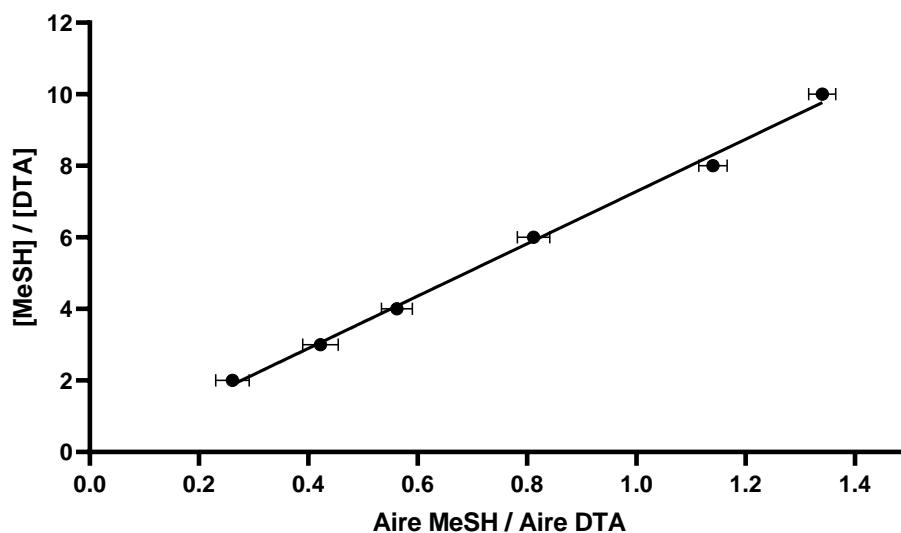


Figure 5.2 : Courbe d'étalonnage du méthaneithiol dans le Champagne en mode splitless ($R^2 = 0,995$). 2 mesures sur des échantillons différents pour chaque concentration.

Des courbes d'étalonnage linéaires avec un coefficient de détermination supérieur à 0,99 ont été obtenues, ce qui traduit une bonne correspondance entre la courbe de tendance et les données. Cette calibration permet de déterminer les concentrations en méthane-thiol et en DMDS inconnues présentes dans des échantillons de Champagne irradiés. Le détecteur PFPD ayant un facteur de réponse plus important pour les disulfures et les trisulfures que pour les monosulfures, les aires de pics obtenues pour le méthane-thiol sont moins importantes. De plus, la sélectivité de la fibre SPME joue également un rôle sur l'adsorption des composés soufrés. En effet, la fibre SPME adsorbe plus de disulfures et de trisulfures que de monosulfures. C'est pour ces raisons que le coefficient directeur de la droite d'étalonnage est plus élevé pour le méthane-thiol.

5.3 Analyse des espèces soufrées volatiles formées dans des échantillons de Champagne irradiés et analyse sensorielle

Pour déterminer si un Champagne a développé un goût de lumière, il est possible de faire appel à un panel sensoriel qui est soumis à un test à l'aveugle sur différents échantillons de vin. Ce projet de thèse se faisant en collaboration avec les Champagnes G.H.Mumm, nous avons eu la chance de pouvoir profiter de leur savoir-faire et nous avons pu disposer d'un panel d'experts entraîné pour la détection du goût de lumière. Les expériences présentées dans ce sous-chapitre ont pour but de déterminer la corrélation entre les analyses chimiques réalisées avec la méthode analytique développée et les dégustations effectuées par un panel d'experts sur des bouteilles de Champagne irradiées à différents temps d'exposition. Ainsi, deux lots de quatre bouteilles de Champagne en verre transparent ont été irradiés avec un Suntest XLS⁺ à une puissance de 510 W/m² à quatre temps d'exposition différents. Ces irradiations ont été faites au sein des locaux de G.H.Mumm à Reims et les durées d'exposition des bouteilles à la lumière sont présentées ci-dessous (Tableau 5.1).

Bouteille	1 (témoin)	2	3	4
Temps d'exposition (min)	0	8	12	19

Tableau 5.1 : Temps d'exposition des bouteilles de Champagne irradiées.

Un lot de 4 bouteilles a été analysé pour déterminer la teneur en espèces soufrées volatiles et l'autre lot a été conservé à Reims afin de réaliser les analyses sensorielles. Après une semaine et demie de repos, les bouteilles ont été ouvertes simultanément à Bordeaux pour l'analyse chimique et à Reims pour l'analyse sensorielle. Celle-ci a été réalisée de la manière suivante : les dégustateurs avaient devant eux quatre verres correspondant aux quatre échantillons présentés dans le tableau ci-dessus (Tableau 5.1). Les échantillons étaient disposés dans un ordre aléatoire. Les dégustateurs disposaient également d'un verre de référence correspondant à un verre témoin non irradié (Figure 5.3) et ils pouvaient revenir à tout moment sur le verre témoin lors de la dégustation. Pour chaque échantillon, les dégustateurs ont attribué une note allant de 0 à 10 (0 = intensité nulle et 10 = intensité maximale). Le panel sensoriel était constitué de 26 dégustateurs.



Figure 5.3 : Illustration explicative de l'analyse sensorielle par comparaison d'échantillons anonymés.

Le goût de lumière est un défaut qui sature rapidement les récepteurs olfactifs des dégustateurs. Cela signifie que l'ordre de présentation des verres peut influencer le dégustateur. En effet, si un dégustateur goûte un verre présentant un fort goût de lumière en premier, il éprouvera des difficultés à faire la différence entre les autres verres par la suite. Les résultats obtenus sont les suivants :

- Sur les 26 dégustateurs, seuls 5 ont retrouvé l'ordre exact des échantillons.
- Sur les 26 dégustateurs, 19 ont retrouvé le témoin non irradié.

Les notes moyennes obtenues pour chaque échantillon sont regroupées dans le tableau ci-dessous (Tableau 2). Seules les notes données par les dégustateurs qui ont trouvé le témoin ont été prises en compte.

Durée d'exposition	0 min	8 min	12 min	19 min
Note moyenne obtenue	0,1 / 10	4,2 / 10	7,3 / 10	6,4 / 10

Tableau 5.2 : Notes moyennes données par le panel sensoriel pour chaque échantillon.

Le témoin non irradié a obtenu une note moyenne de 0,1 / 10. Cela signifie qu'il ne présente pas de goût de lumière. La note moyenne de l'intensité du goût de lumière perçu par les dégustateurs est la plus élevée pour l'échantillon irradié pendant 12 min (7,3/10). La note moyenne est de 4,2/10 pour l'échantillon irradié pendant 8 min et de 6,4/10 pour l'échantillon irradié pendant 19 min. Cela suggère qu'à partir de 12 min d'exposition, les dégustateurs ne parviennent plus à différencier l'intensité du goût de lumière. Les résultats de ces dégustations permettent donc de formuler deux hypothèses : les dégustateurs ont atteint leur seuil de saturation à partir de 12 min d'exposition ou bien la quantité d'espèces soufrées volatiles formées pour 12 min d'exposition et 19 min d'exposition est similaire. Afin de distinguer ces hypothèses, les échantillons envoyés à Bordeaux ont été analysés par SPME-GC-PFPD. Pour cela, 9 mL de Champagne ont été placés dans un pilulier et le DTA a été ajouté afin d'atteindre une concentration finale de 10^{-8} M dans l'échantillon. Les concentrations ont été calculées en utilisant les courbes de calibration décrites plus tôt dans ce chapitre et le protocole complet de l'échantillonnage est détaillé dans la partie expérimentale. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 5.3).

Echantillon	Témoin 0	8 min 220 kJ/m ²	12 min 340 kJ/m ²	19 min 560 kJ/m ²
Dégustation	0,1/10	4,2/10	7,3/10	6,4/10
MeSH (µg/L)	0,53	2,2 x4	5,4 x10	6,0 x11
DMDS (ng/L)	Non détecté	36	68	105

Tableau 5.3 : Concentrations en méthaneithiol et en DMDS mesurées par SPME-GC-PFPD pour chaque échantillon irradié.

Pour chaque échantillon, plus de 98% de la concentration en soufre formée correspond à du méthaneéthiol. En effet, très peu de DMDS est formé dans les échantillons de Champagne irradiés et il n'est pas présent dans le témoin. La concentration en DMDS augmente lorsque le temps d'irradiation augmente (x3 pour l'échantillon irradié pendant 19 min par rapport à celui irradié pendant 8 min) mais les valeurs sont faibles et en dessous du seuil de perception du DMDS. Le DMDS n'a donc pas d'incidence sur les notes données par le panel d'experts sur l'intensité du goût de lumière. Pour tous les échantillons, même le témoin, le méthaneéthiol a été détecté. Cependant, la concentration est 5 fois plus élevée pour l'échantillon irradié pendant 8 min par rapport au témoin et elle est 12 fois plus élevée pour l'échantillon irradié pendant 12 min par rapport au témoin. Cela signifie que la concentration en méthaneéthiol augmente fortement entre l'échantillon témoin et celui correspondant à une irradiation de 12 min. Pour l'échantillon irradié pendant 19 min, la concentration est 14 fois plus élevée que le témoin et elle est du même ordre de grandeur que pour l'échantillon irradié pendant 12 min. Cela signifie que les 7 minutes d'irradiation supplémentaires entre les deux échantillons n'ont pas entraîné la formation d'une quantité importante de méthaneéthiol. La concentration en méthaneéthiol obtenue pour le témoin est inférieure au seuil de perception décrit dans la littérature (entre 1,8 et 3,1 µg/L).⁵¹ L'échantillon qui a été irradié pendant 8 min contient une concentration en méthaneéthiol qui se situe autour du seuil de perception et les échantillons irradiés plus longtemps possèdent des taux en méthaneéthiol plus élevés que le seuil de perception. Les concentrations mesurées et les notes données par le panel sensoriel sont donc globalement en accord avec la littérature. De plus, le caractère effervescent du Champagne peut intensifier les odeurs et les goûts perçus

Lors des dégustations, le panel sensoriel a trouvé qu'il y a une forte augmentation du goût de lumière jusqu'à 12 min d'irradiation mais ils ont attribué des notes similaires pour les échantillons irradiés 12 min et 19 min. Cela est donc en accord avec les analyses effectuées. Après 12 min d'irradiation, il n'y a pas d'augmentation significative de la concentration en espèces soufrées volatiles. Il doit cependant rester de la méthionine car la concentration en méthaneéthiol mesurée est largement inférieure à celle de la méthionine initiale (environ 10 mg/L). Il est possible que la majorité de la riboflavine à l'état fondamental ait été consommée lors des irradiations et que celle-ci reste à l'état réduit du fait du très faible taux d'oxygène

dans les bouteilles de Champagne. Il doit donc rester des précurseurs soufrés mais qui ne sont plus dégradés. De plus, comme cela a été montré dans le chapitre 3, la quantité d'espèces soufrées volatiles formées n'est pas proportionnelle au temps d'irradiation. En effet, la dégradation de la méthionine n'est pas linéaire en fonction du temps d'irradiation et un appauvrissement de la concentration en méthionine diminue l'efficacité du processus de formation des espèces soufrées volatiles.

Les résultats obtenus montrent donc une bonne corrélation entre les dégustations effectuées par le panel sensoriel à Reims et les analyses chimiques effectuées au laboratoire. Les analyses chimiques ont également permis d'identifier le méthaneéthiol comme étant l'espèce largement responsable du goût de lumière dans le Champagne et de fixer un seuil de perception inférieur à 2,2 µg/L.

5.4 Irradiations avec un Suntest Q-1000 et analyses de Champagne frais et aéré

Dans le but de réaliser des irradiations au sein du laboratoire, nous avons fait l'acquisition d'un Suntest Q-Sun 1000 de Q-lab®. Un protocole d'irradiation en utilisant ce simulateur solaire a été développé. Afin de pouvoir irradier de faibles volumes de Champagne et pas des bouteilles entières, un protocole de scellage d'ampoules d'une contenance de 5 mL a été mis au point. En effet, il est indispensable d'avoir un contenant fermé hermétiquement pour éviter que les espèces soufrées volatiles formées ne s'évaporent. Le Q-Sun atteignant rapidement des températures supérieures à 40°C, nous n'aurions pas pu analyser de manière reproductible les échantillons. Le protocole initial utilisé est le suivant : 2 x 4,5 mL de Champagne ont été mis dans deux ampoules transparentes et ces dernières ont été scellées en utilisant un chalumeau. Les ampoules ont ensuite été irradiées pendant 12 min à une puissance de 250 W/m² dans le Q-Sun 1000, puis ouvertes et la solution a été analysée par SPME-GC-PFPD en présence du DTA à une concentration finale de 10⁻⁸ M dans l'échantillon. Cependant, les résultats obtenus n'étaient pas reproductibles. En effet, le Q-Sun n'étant pas

équipé d'un système de refroidissement, les échantillons chauffaient, ce qui entraînait des concentrations en espèces soufrées volatiles variables pour des conditions opératoires similaires.

Pour éviter les problèmes liés à la température, les échantillons ont été placés dans un cristalliseur rempli d'eau froide pendant les irradiations afin d'absorber les rayons infrarouges émis par le Q-Sun 1000. Ainsi, les échantillons restaient à une température proche de 25°C et nous pouvions obtenir des données reproductibles (Tableau 5.4).

	Témoin non irradié	Essai 1 12 min d'irradiation	Essai 2 12 min d'irradiation	Essai 3 12 min d'irradiation	Moyenne essais 1, 2 et 3
MeSH (µg/L)	0,93	3,49	3,33	3,30	3,37
DMDS (ng/L)	/	117	110	121	116

Tableau 5.4 : Optimisation de la méthode d'irradiation avec le Q-Sun 1000 par irradiation d'échantillons de Champagne pendant 12 min.

Ces résultats indiquent que les concentrations en méthaneéthiol et en DMDS obtenues sont très proches pour chacun des trois essais réalisés. Ainsi, une méthode d'irradiation reproductible a été développée en utilisant le Q-Sun 1000.

Nous avons émis comme hypothèse dans la partie 5.3 de ce chapitre que les concentrations en méthaneéthiol étaient proches pour des temps d'irradiation de 12 min et de 19 min car la riboflavine restait à l'état réduit et qu'elle ne pouvait plus oxyder la méthionine présente dans le Champagne. Afin de confirmer cette hypothèse, nous avons comparé la couleur d'un échantillon témoin non irradié et la couleur d'un échantillon irradié pendant 12 min avec le Q-Sun 1000. Pour l'échantillon irradié, le Champagne perd une partie de sa couleur jaune caractéristique (Figure 5.4).



Figure 5.4 : Echantillons contenant du Champagne. (à gauche) : témoin non irradié (à droite) : échantillon irradié 12 min.

Cela suggère que la plupart de la riboflavine a été réduite et qu'elle n'est pas réoxydée du fait de la très faible teneur en O_2 présente dans le Champagne. La dégradation de la méthionine ne peut donc pas continuer même si l'irradiation de l'échantillon est prolongée. Afin de mieux comprendre ce phénomène et d'étudier l'impact de l'oxygène sur la formation des espèces soufrées volatiles dans le Champagne, des échantillons ayant été en contact prolongé avec l'air ont été irradiés. En effet, en se basant sur les résultats obtenus ci-dessus, la présence d'oxygène pourrait entraîner la formation d'une plus grande quantité de méthanthiol et de DMDS en raison de la possibilité de réoxyder la riboflavine.

Des échantillons provenant d'une bouteille de Champagne ouverte depuis 1 semaine et stockée à température ambiante ont été irradiés pendant différentes durées : 8 min, 12 min et 19 min. En parallèle, des échantillons ont également été irradiés pendant les mêmes durées mais avec un Champagne fraîchement ouvert et contenant donc de faibles teneurs en oxygène. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure ci-dessous (Figure 5.5).

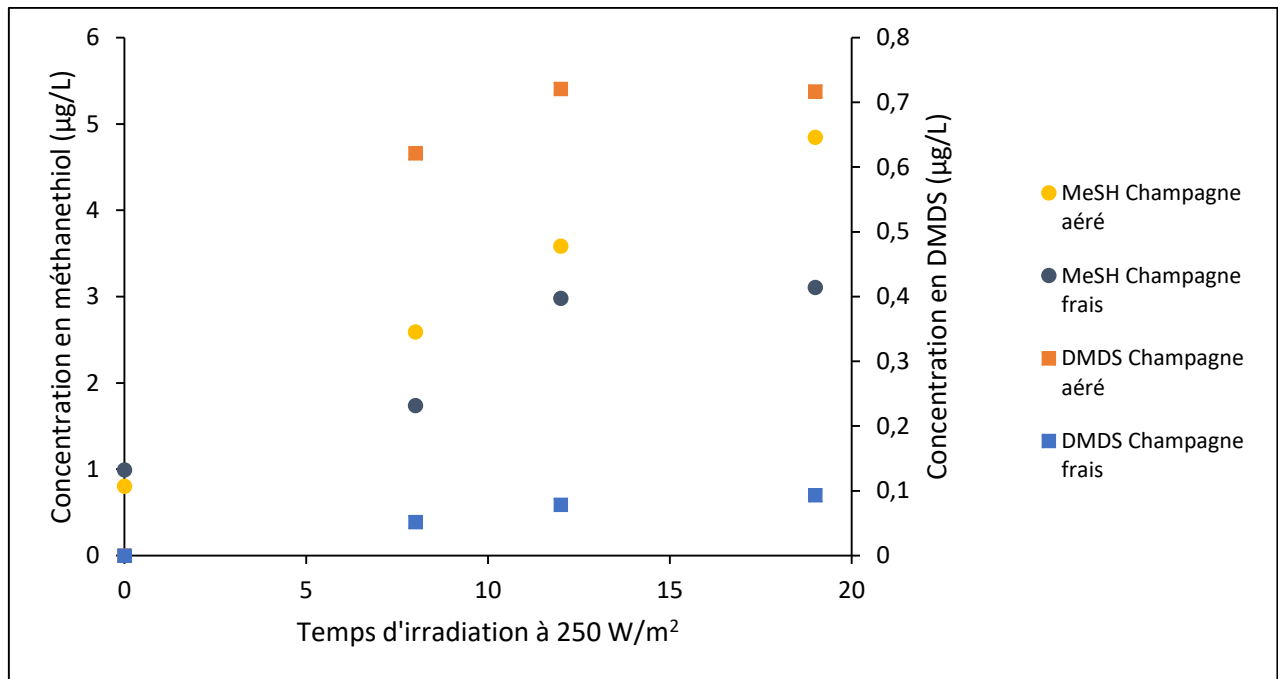


Figure 5.5 : Concentrations en méthaneéthiol et en DMDS dans des échantillons de Champagne frais et aérés après 12 min d'irradiation à 250 W/m² (µg/L).

Le graphique de la Figure 5.5 indique que les concentrations en méthaneéthiol sont plus élevées pour les échantillons qui ont été en contact prolongé avec l'air que ceux provenant d'un Champagne fraîchement ouvert (1,5 fois plus pour 19 min d'irradiation). De plus, pour le Champagne aéré, la concentration en méthaneéthiol semble augmenter linéairement jusqu'à 19 min d'irradiation alors que celle du Champagne frais n'augmente que très peu entre 12 min d'irradiation et 19 min d'irradiation. Ces observations rejoignent celles faites dans la partie 5.3. La réaction peut continuer au-delà de 12 min d'irradiation avec le Champagne contenant une teneur en oxygène plus importante. Les concentrations en DMDS, quant à elles, sont beaucoup plus élevées dans le Champagne aéré (jusqu'à 8 fois plus pour 19 min d'irradiation). Ces résultats indiquent clairement l'influence de l'oxygène sur la formation du DMDS dans le Champagne. Cependant, la concentration en DMDS n'augmente plus après 12 min d'irradiation dans le Champagne aéré. Pour les échantillons aérés pendant une semaine, la couleur du Champagne après irradiation était similaire à celle d'un témoin non irradié. Cela signifie que la riboflavine à l'état réduit peut être réoxydée et elle contribue à la formation du méthaneéthiol et du DMDS dans les vins qui ont été aérés (Schéma 5.1).

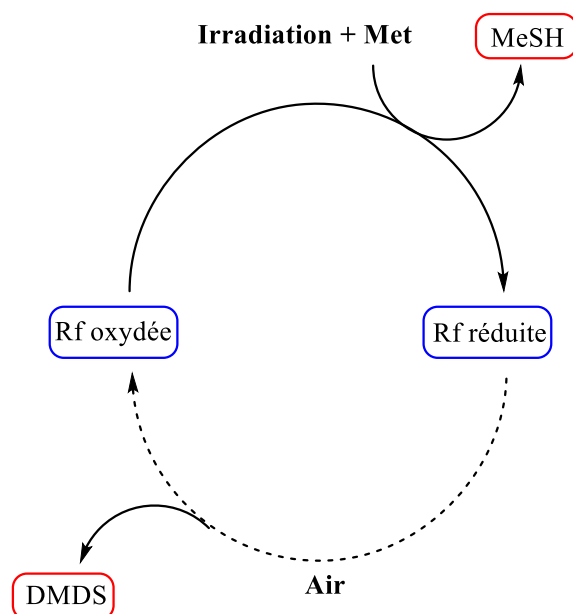


Schéma 5.1 : Influence de l'oxygène sur les états d'oxydation de la riboflavine et les espèces sulfurées volatiles formées lors de l'irradiation du Champagne.

La quantité d'oxygène présente dans le Champagne est donc un élément déterminant dans la formation du goût de lumière. Ces observations rejoignent par ailleurs celles formulées dans le chapitre 3 : la présence d'oxygène entraîne une augmentation de la concentration en espèces sulfurées volatiles formées. Ces résultats indiquent que les Champagnes ou les vins blancs qui contiennent un taux en oxygène plus important sont plus à risque de développer le goût de lumière.

La concentration en méthaneithiol de l'échantillon témoin non irradié est légèrement inférieure pour le Champagne qui a été en contact avec l'air. Cela peut s'expliquer par le fait que le méthaneithiol réagit avec des espèces issues de l'oxydation des phénols : les quinones.¹⁹⁶ En effet, des études ont montré que la concentration en méthaneithiol diminue dans le vin au cours du temps en présence d'une quantité suffisante d'oxygène.^{197,198} D'autres études expliquent la baisse de la concentration en méthaneithiol par l'oxydation en DMDS¹⁹⁹ mais les concentrations associées ne sont pas concordantes¹⁹⁸ et nous n'avons pas observé de DMDS dans le Champagne témoin.

5.5 Protection de solutions authentiques de Champagne avec une résine fonctionnelle

Comme cela a été présenté dans le chapitre 4, une résine pouvant complexer la méthionine a été synthétisée. Cette résine a été testée sur des solutions modèles et sur le Champagne authentique afin de déterminer s'il est possible de réduire les concentrations en espèces soufrées volatiles formées lors de l'irradiation de ces solutions. En premier lieu, l'efficacité de la résine a été évaluée sur des solutions modèles analogues à celles utilisées pour les expériences présentées dans les chapitres 2 et 3. Ce vin synthétique était composé de riboflavine à une concentration de 250 µg/L et de méthionine à une concentration de 15 mg/L afin de se rapprocher des concentrations réelles présentes dans les vins et les Champagnes.

La solution modèle a été agitée pendant une semaine à l'aide d'un agitateur orbitalaire en présence d'une quantité de 0,2 g/L de résine. La résine a ensuite été filtrée et la solution obtenue a été mise dans deux ampoules transparentes (2 x 4,5mL) qui ont été scellées et irradiées pendant 5 min à 250 W/m². Les ampoules ont ensuite été ouvertes et la solution obtenue a été analysée par SPME-GC-PFPD en split 200. En parallèle, un échantillon témoin sans résine a été agité, irradié et analysé de manière analogue. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 5.5).

	Sans résine 23	Résine 23 à 0,2 g/L
Méthanethiol (µg/L)	184	Non détecté
DMDS (µg/L)	276	10,1
DMTS (µg/L)	133	Non détecté

Tableau 5.5 : Concentrations en méthanethiol, DMDS et DMTS mesurées par SPME-GC-PFPD après irradiation d'une solution modèle à 250 W/m² pendant 5 min en présence et en absence de résine.

Ces résultats indiquent que la résine a permis de diminuer les concentrations en espèces soufrées volatiles formées. En effet, pour l'échantillon traité avec la résine, le méthanethiol et le DMTS ne sont pas détectés. De plus, une diminution de 96% de la concentration en DMDS est observée. Cela signifie que la résine a adsorbé suffisamment de

méthionine pour qu'il n'y ait pratiquement plus d'espèces soufrées volatiles formées. La résine est donc très efficace pour l'adsorption de méthionine dans les solutions modèles. Afin d'évaluer l'efficacité de la résine sur des solutions authentiques, des expériences sur le Champagne ont été réalisées. La matrice Champagne contient de nombreuses espèces chimiques supplémentaires et certaines d'entre elles peuvent également se lier à la résine. La complexation de la méthionine pourrait donc être moins efficace.

Par exemple, la résine pourrait se lier avec d'autres acides aminés présents dans les vins et les Champagnes. En effet, on peut s'attendre à ce que la résine puisse complexer efficacement les acides aminés ayant un atome d'azote sur leur chaîne latérale tels que l'arginine ou l'histidine car les liaisons cuivre-azote sont des liaisons fortes.²⁰⁰ La cystéine pourrait aussi être efficacement adsorbée par la résine via la création de liaisons fortes cuivre-soufre, de la même manière qu'avec la méthionine.¹⁵⁸ Le Champagne contient également de nombreux composés aromatiques tels que des esters, des aldéhydes et des cétones. Ces composés devraient être moins adsorbés que les acides aminés évoqués précédemment car ils forment des liaisons moins fortes avec le cuivre.²⁰¹ De plus, ces composés ne sont généralement pas chargés et il n'y aurait donc pas d'interactions électrostatiques avec les groupements sulfonates de la résine. Cependant, certains de ces composés sont présents à faible concentration (de l'ordre du $\mu\text{g/L}$)²⁰² et leur adsorption par la résine pourrait modifier les arômes du Champagne. Tous ces éléments sont donc à prendre en compte afin de ne pas dégrader le profil sensoriel du Champagne après traitement avec la résine.

Un protocole similaire à celui utilisé pour les solutions modèles a été appliqué avec du Champagne fraîchement ouvert et des quantités variables de résine. Ainsi, sept échantillons ont été agités pendant une semaine : 5 échantillons correspondent à des quantités de résine variant de 0,2 g/L à 2 g/L, un échantillon correspond à un témoin sans résine à irradier dans les mêmes conditions et un échantillon correspond à un témoin qui ne sera pas irradié. Les résultats obtenus sont présentés sur le graphique ci-dessous (Figure 5.6). Le méthane-thiol compte pour plus de 90% de la concentration totale en espèces soufrées volatiles et la concentration en méthane-thiol initialement présente dans le témoin non irradié a été soustraite aux valeurs présentées. La concentration correspondant au témoin non-irradié de

l'analyse sensorielle a également été soustraite à la concentration associée à la note moyenne attribuée par le panel sensoriel.

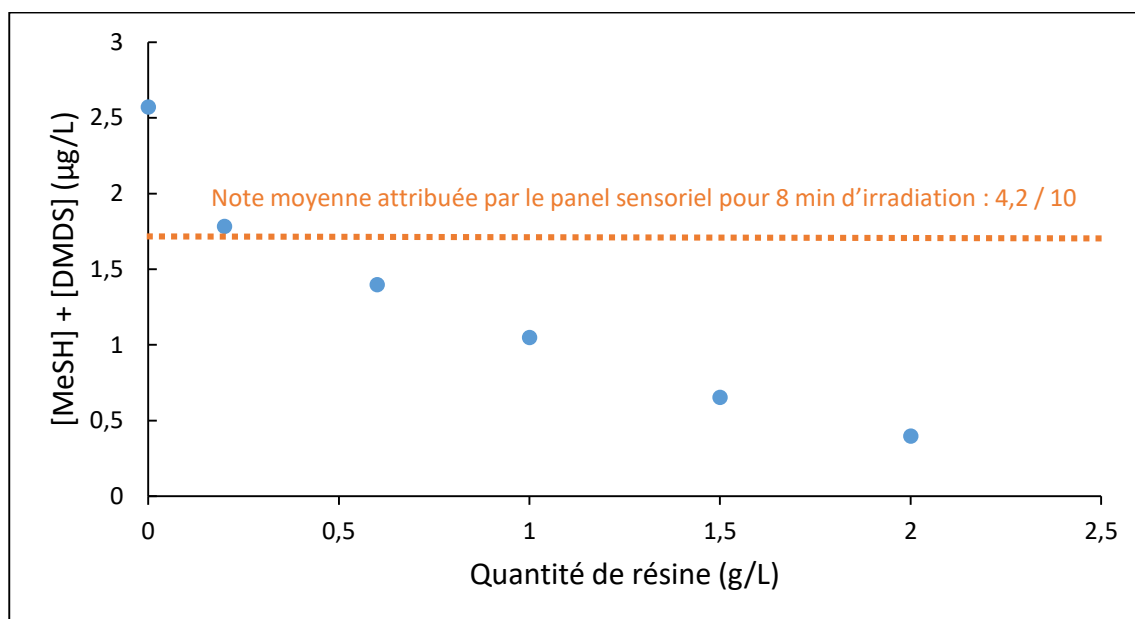


Figure 5.6 : Concentration totale en produits soufrés volatiles formés (MeSH + DMDS) après irradiation des échantillons de Champagne pendant 12 min à 250 W/m² en fonction de la quantité de résine ajoutée.

Une diminution importante des concentrations en espèces soufrées volatiles formées est observée dans le cas des solutions de Champagne authentiques. En effet, entre le témoin irradié ne contenant pas de résine et l'échantillon irradié contenant 2 g/L de résine, une diminution de 84% de la concentration en espèces soufrées volatiles est observée. Cela signifie que suffisamment de méthionine a été complexée pour que celle-ci ne soit que peu dégradée par le triplet de la riboflavine. La résine est donc également très efficace pour complexer la méthionine présente dans le Champagne authentique.

Afin de connaître le temps nécessaire à la résine pour atteindre le maximum de rétention de méthionine, un suivi cinétique a été réalisé en choisissant une quantité intermédiaire de résine (0,6 g/L). Ainsi, sept échantillons différents ont été préparés dont cinq contiennent une quantité de résine de 0,6 g/L, un correspond au témoin sans résine à irradier dans les mêmes conditions et un correspond au témoin qui ne sera pas irradié. Les cinq échantillons contenant la résine ont été ouverts à différents temps, filtrés, scellés, irradiés et analysés par SPME-GC-PFPD. Le témoin irradié ainsi que le témoin non irradié ont été analysés à $t = 5$ jours pour vérifier que le Champagne ne s'était pas aéré entre temps. En effet, comme

cela a été présenté plus tôt dans ce chapitre, le Champagne peut perdre de sa fraîcheur au cours du temps et les espèces soufrées volatiles ne sont plus formées dans les mêmes proportions. Les résultats obtenus sont présentés dans le graphique ci-dessous (Figure 5.7). Le méthaneithiol compte pour plus de 94% de la concentration totale en espèces soufrées volatiles formées et la concentration en méthaneithiol initialement présente dans le témoin non irradié a été soustraite aux valeurs présentées. La concentration correspondant au témoin non-irradié de l'analyse sensorielle a également été soustraite à la concentration associée à la note attribuée par le panel sensoriel.

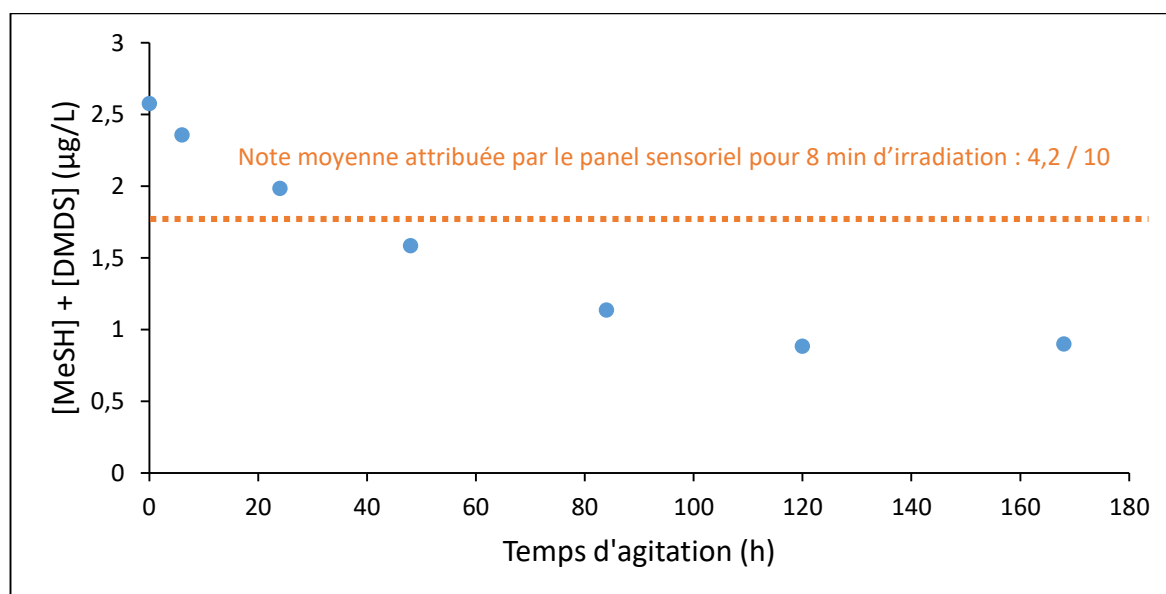


Figure 5.7 : Concentrations en espèces soufrées volatiles formées (MeSH + DMDS) après irradiation des échantillons de Champagne pendant 12 min à 250 W/m² en fonction du temps d'agitation en présence de résine à 0,6 g/L.

Ces résultats indiquent que la quantité minimale d'espèces soufrées volatiles formées est atteinte pour un temps égal à 5 jours. Entre 5 et 7 jours, la résine n'adsorbe pas plus de méthionine. On remarque également que la diminution de la concentration en méthaneithiol et en DMDS est de 63% avec seulement 0,6 g/L. L'étude précédente sur l'influence de la concentration en résine avait montré une diminution de 45% pour 0,6 g/L. Cela peut s'expliquer par le fait que les échantillons ont été agités à 250 RPM au lieu de 150 RPM. La vitesse d'agitation des échantillons en présence de résine pourrait donc jouer un rôle sur l'efficacité d'adsorption de la méthionine. Cette étude cinétique a permis de montrer que le

temps d'agitation optimal des échantillons de Champagne en présence de résine est de cinq jours environ.

5.6 Conclusions et perspectives

L'analyse des espèces soufrées volatiles présentes en solution dans le Champagne a été possible en utilisant la technique SPME-GC-PFPD. L'optimisation de la méthode analytique a montré qu'il était nécessaire d'employer le mode splitless pour analyser le méthane-thiol et le DMDS, qui sont présents à faible concentration. Des droites d'étalonnage pour chaque composé soufré présent dans le Champagne irradié ont pu être obtenues. Les irradiations sur le Champagne authentique ont également permis de montrer que le méthane-thiol est l'espèce largement majoritaire qui est formée après irradiation des échantillons en absence d'oxygène. La formation du goût de lumière dans une bouteille de Champagne fermée ou fraîchement ouvert est donc due au méthane-thiol. Nous avons montré qu'il existe une corrélation entre les analyses chimiques effectuées en laboratoire et les analyses sensorielles réalisées par un panel sensoriel. En effet, après 12 min d'irradiation d'un échantillon contenant du Champagne avec un simulateur solaire, peu d'espèces soufrées volatiles supplémentaires sont formées. Cela est dû au fait qu'en absence d'oxygène, la riboflavine reste à l'état réduit après avoir oxydé la méthionine et qu'elle n'est donc plus réactive. Cela a été confirmé par la différence de couleur entre un échantillon de Champagne non irradié et un échantillon de Champagne frais irradié.

Nous avons également mis en évidence qu'un Champagne aéré est encore plus à risque de développer un goût de lumière. En effet, l'oxygène oxyde la riboflavine à l'état réduit et la dégradation de la méthionine présente dans le Champagne peut continuer. Cela entraîne donc la formation d'une plus grande quantité d'espèces soufrées volatiles. Par ailleurs, les résultats du chapitre 3 ont montré que la riboflavine est réoxydée jusqu'à la moitié de son absorbance en absence totale d'oxygène. Les Champagnes sont donc à risque face à l'apparition du goût de lumière même s'ils ont déjà été en contact avec de la lumière par le passé et qu'ils n'ont pas été ouverts.

La résine à base de porphyrines cuivrées a montré sa très grande efficacité à complexer la méthionine dans les solutions modèles et dans le Champagne authentique. En effet, nous avons montré qu'il est possible de diminuer la formation des espèces soufrées volatiles de 84% en utilisant 2 g/L de résine **23**. Cette méthode de protection pourrait donc permettre de minimiser l'apparition du goût de lumière dans le Champagne en diminuant la concentration en méthionine afin qu'elle ne puisse pas réagir efficacement avec le triplet de la riboflavine. Afin de pouvoir utiliser cette résine en conditions industrielles, il serait souhaitable de réaliser des études toxicologiques. En effet, il est important de vérifier que la résine ne relargue pas d'espèces chimiques résiduelles dans le Champagne après complexation de la méthionine. La résine doit répondre aux normes pour un composé en contact avec un produit alimentaire et un taux de cuivre résiduel important serait problématique. Il serait également intéressant d'évaluer la recyclabilité de ce matériau. Pour cela, la méthionine doit être décomplexée et l'efficacité de la résine doit être testée à nouveau. Enfin, il faut s'assurer que la résine n'absorbe pas une quantité trop importante d'arômes présents dans le Champagne. En effet, la résine doit être suffisamment sélective pour la méthionine afin qu'elle n'altère pas le profil sensoriel du Champagne .

Conclusion générale et perspectives

Ce projet de thèse a pour but d'étudier le mécanisme de formation du goût de lumière dans les vins et les Champagnes et de proposer une méthode de protection qui permette de minimiser son apparition. La formation du goût de lumière est globalement comprise et maîtrisée dans l'industrie brassicole et l'industrie des produits laitiers, contrairement à l'industrie viticole. Cette étude permet donc d'apporter des précisions sur le mécanisme de formation du goût de lumière dans les vins et les Champagnes ainsi que sur les paramètres pouvant influencer son apparition.

La photooxydation de la méthionine par le triplet de la riboflavine est responsable de la formation de plusieurs espèces soufrées volatiles : le méthaneéthiol, le DMDS et le DMTS. Afin d'étudier le mécanisme de formation de ces espèces, des irradiations ont été faites avec un banc optique composé d'une lampe xénon-mercure et d'un monochromateur. Une méthode analytique SPME-GC-PFPD a été développée afin de mesurer les concentrations en espèces soufrées volatiles formées ce qui a permis de calculer des rendements quantiques. Le mécanisme proposé par Maujean & al. en 1983 dans lequel le radical cation de la méthionine se décompose via l'assistance du groupement carboxylate s'avère être limité. En effet, l'irradiation d'analogues structurels de la méthionine (MBA et MP) en présence de riboflavine a montré que les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles formées sont constants même en l'absence des fonctions carboxylate et ammonium. De plus, les rendements quantiques de DMDS et DMTS sont à peu près constants sur une gamme de pH comprise entre 1,5 et 9. Il a également été montré que le processus d'oxydation de la méthionine par le triplet de la riboflavine atteint 37%.

Un mécanisme alternatif dans lequel le méthaneéthiol et le DMDS peuvent être formés selon deux voies différentes en absence d'oxydant a été proposé. Le méthaneéthiol serait formé suite à la dégradation du radical cation de la méthionine et une partie du DMDS serait issue de l'hétérolyse d'un dimère radical cation de la méthionine. Le DMTS serait formé par réaction entre le méthaneéthiol et le DMDS en présence d'oxygène. Des études ont été réalisées afin de démontrer que ce mécanisme est valable. La formation de glycine, qui est un produit d'hétérolyse du dimère radical cation de la méthionine, a été mise en évidence dans

un échantillon irradié. De plus, l'irradiation de solutions contenant la méthionine et l'isopropionine en présence de riboflavine ont mis en évidence la formation de produits mixtes de recombinaison entre des résidus de la méthionine et des résidus de l'isopropionine. Le mélange des produits obtenus n'étant pas statistique, ce résultat suggère que des radicaux cations à trois électrons sont formés.

Plusieurs paramètres pouvant influencer la formation du goût de lumière ont été étudiés. L'étude sur la longueur d'onde d'irradiation a montré que les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles formées sont constants entre 300 et 500 nm. L'influence de l'oxygène a également été étudiée. Ce facteur joue un rôle prépondérant dans la formation du goût de lumière. Pour des solutions saturées en oxygène, les espèces soufrées volatiles sont formées en très faible quantité car le triplet de la riboflavine réagit préférentiellement avec l'oxygène. Au contraire, lorsque les solutions sont purgées avec de l'argon, la quantité d'espèces soufrées formées est importante. Lorsque la solution est purgée avec de l'argon et irradiée au contact de l'air, la quantité d'espèces soufrées formée est encore plus importante. En effet, la riboflavine à l'état fondamental peut être reformée au contact de l'oxygène et le processus de photo-oxydation peut continuer. Il a également été montré que la formation des espèces soufrées volatiles continue dans le noir après irradiation et la formation de peroxyde d'hydrogène semble impliquée dans ce processus. L'ajout de sulfites et de sucres dans les solutions modèles ont permis de diminuer les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles formées. Cependant, l'effet protecteur des sulfites est limité et ne permet pas d'empêcher complètement la formation du méthanthiol, du DMDS et du DMTS.

Une méthode de protection permettant de minimiser l'apparition du goût de lumière a été développée. La complexation de la méthionine par une résine poreuse à base de porphyrines cuivrées permet de diminuer la quantité de méthionine présente dans les échantillons et donc de former moins d'espèces soufrées volatiles. La complexation peut se faire au travers de la formation de liaisons covalentes entre l'atome de cuivre de la porphyrine et l'atome de soufre de la méthionine ou bien par des interactions électrostatiques entre les substituants anioniques de la porphyrine et le groupement ammonium de la méthionine. Afin de déterminer s'il est possible de complexer la méthionine avec ce type de composés, des porphyrines cuivrées hydrosolubles avec des substituants sulfonates ont été synthétisées. Des

expériences par spectroscopie RMN ^1H ont montré que les aires et les intensités des pics de la méthionine diminuent lorsque les porphyrines hydrosolubles sont ajoutées. Ces résultats montrent que les porphyrines métallées permettent de complexer la méthionine. Des résines poreuses contenant des motifs à base de porphyrines cuivrées ont également été synthétisées. L'optimisation du schéma réactionnel a permis de synthétiser une résine en quatre étapes seulement à partir de précurseurs accessibles et peu coûteux. Des expériences de complexation de la méthionine par RMN ^1H dans le D_2O suggèrent qu'un équivalent de sites de complexation de la résine permet de complexer 88% de la méthionine présente dans l'échantillon.

Des études ont également été réalisées sur des solutions authentiques de Champagne. Les concentrations en méthane-thiol et en DMDS formées lors de l'irradiation d'échantillons de Champagne avec un simulateur solaire ont été analysées par SPME-GC-PFPD. En parallèle, des analyses sensorielles ont été réalisées et nous avons montré que les résultats des analyses chimiques sont concordants avec les conclusions du panel sensoriel. L'effet de l'oxygène a également été étudié. Ainsi, un Champagne fraîchement ouvert développe un goût de lumière moins prononcé qu'un Champagne qui a été en contact avec l'air pendant longtemps. Cela est dû au fait que la riboflavine peut être réoxydée par l'oxygène dans le deuxième cas. L'efficacité de la résine poreuse à complexer la méthionine a été testée sur des solutions authentiques de Champagne. Des échantillons contenant du Champagne et la résine poreuse ont été agités, irradiés et les espèces soufrées volatiles formées ont été mesurées. Pour une quantité de 2 g/L de polymère, nous avons montré que la concentration totale en espèces soufrées volatiles formée diminue de 84%. La résine permet donc de complexer efficacement la méthionine.

Des perspectives peuvent être envisagées pour ces travaux. Tout d'abord, plusieurs types de résines pourraient être synthétisées. En effet, en modifiant la structure des résines, il serait possible d'augmenter la porosité de l'édifice chimique obtenu et d'adsorber une plus grande quantité de méthionine. Des synthèses avec d'autres précurseurs chimiques pourraient donc être envisagées et des mesures de porosité permettraient de comparer les résines obtenues. De plus, dans cette étude, seules les porphyrines à base de cuivre ont été considérées. Il existe d'autres métaux pouvant former des liaisons de coordination fortes avec le soufre, tels que le fer (II) ou le nickel (II). Des porphyrines contenant ces métaux pourraient

également être efficaces vis-à-vis de l'adsorption de méthionine. Enfin, il serait intéressant d'évaluer la recyclabilité du matériau en décomplexant la méthionine et en évaluant l'efficacité de la résine après plusieurs utilisations. La sélectivité de la résine pour la méthionine par rapport aux composés présents dans le Champagne pourrait également être évaluée afin de déterminer quelles espèces sont adsorbées. Des études comparatives sur la compétition entre la méthionine et d'autres acides aminés pourraient être réalisées par spectroscopie RMN.

A ce jour, il n'existe pas de méthodes permettant de diminuer la sensibilité des vins et des Champagnes vis-à-vis de la formation du goût de lumière. La technologie développée lors de cette étude offre donc une véritable alternative à l'utilisation de protections physiques et le Champagne pourrait être conditionné en bouteilles transparentes. Cette technologie pourrait également être utilisée dans les industries de la bière et des produits laitiers. De nombreuses applications sont possibles et le développement de ce procédé permettrait de prévenir l'apparition du goût de lumière dans de nombreux produits.

La commercialisation de cette technologie pourrait se faire selon plusieurs étapes. En premier lieu, il serait nécessaire d'obtenir l'autorisation de mise sur le marché des résines synthétisées. Pour cela, des études toxicologiques devraient être menées afin de prouver que la résine ne relargue pas d'espèces chimiques à des concentrations plus importantes que les normes autorisées. Ensuite, une optimisation de la synthèse des résines devrait être faite afin de les produire en quantité industrielle. Un procédé reproductible, peu coûteux et industrialisable devrait alors être développé. Enfin, l'adsorption de la méthionine par la résine devrait être implémentée dans le procédé de fabrication du Champagne. Une solution pourrait être d'incorporer la résine dans le bidule (pré-bouchon de la bouteille de Champagne) et cette dernière serait au contact du Champagne lors de l'élevage puis elle serait éliminée lors du remuage et du dégorgement. Le Champagne serait alors au contact de la résine durant cette période et une quantité importante de méthionine pourrait être adsorbée.

Références

1. Les particularités oenologiques du Champagne. [en ligne] Disponible à l'adresse : <https://maisons-champagne.com/fr/encyclopedies/histoire-du-champagne/deuxieme-partie-connaissance-du-champagne/chapitre-11-l-elaboration-du-champagne/article/les-particularites-oenologiques-du-champagne> (2021).
2. Dictionnaire du vin, méthode Champenoise. [en ligne] Disponible à l'URL : <https://dico-du-vin.com/methode-champenoise-champagne-2/title> (2021).
3. Duteurtre, B. *Le Champagne de la tradition a la science*. (2010).
4. Périgord, A. B. *Nouvel almanach des gourmands [...] dédié au ventre*. (1825).
5. Zhang, K., Cao, C., Zhou, X., Zheng, F., Sun, Y., Cai, Z. & Fu, J. Pilot investigation on formation of 2,4,6-trichloroanisole via microbial O-methylation of 2,4,6-trichlorophenol in drinking water distribution system: An insight into microbial mechanism. *Water Res.* **131**, 11–21 (2018).
6. Dictionnaire du vin, goût de bouchon. [en ligne] Disponible à l'URL : <https://dico-du-vin.com/tca-246-trichloro-anisole-ou-gout-de-bouchon-degustation-vin-default/> (2021).
7. Haye, B., Maujean, A., Jacquemin, C. & Feuillat, M. Study of the “light tastes” of Champagne wines. *Connaiss. Vigne Vin* **11**, 243–254 (1977).
8. Linter, C. *Lehrbuch der Bierbrauerei. Verlag Vieweg und Sohn* (1875).
9. Kuroiwa, Y. & Hashimoto, N. Composition of Sunstruck Flavor Substance of Beer. *Agric. Biol. Chem.* **25**, 257–258 (1961).
10. San-Juan, F., Cacho, J., Ferreira, V. & Escudero, A. 3-Methyl-2-butene-1-thiol: Identification, analysis, occurrence and sensory role of an uncommon thiol in wine. *Talanta* **99**, 225–231 (2012).
11. Irwin, A. J., Bordeleau, L. & Barker, R. L. Model Studies and Flavor Threshold Determination of 3-Methyl-2-Butene-1-Thiol in Beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **51**, 3–6 (1993).
12. Kuroiwa, Y., Hashimoto, N., Hashimoto, H., Kokubo, E. & Nakagawa, K. Factors Essential for the Evolution of Sunstruck Flavor. *Proceedings. Annu. Meet. - Am. Soc. Brew. Chem.* **21**, 181–193 (1963).
13. Burns, C. S., Heyerick, A., De Keukeleire, D. & Forbes, M. D. E. Mechanism for formation of the lightstruck flavor in beer revealed by time-resolved electron paramagnetic resonance. *Chem. - A Eur. J.* **7**, 4553–4561 (2001).
14. De Keukeleire, D., Heyerick, A., Huvaere, K. & Skibsted, L. H. Beer lightstruck flavor: the full story. *Cerevisia* **33**, 133–144 (2008).
15. Huvaere, K., Sinnaeve, B., Van Boclaer, J. & De Keukeleire, D. Photooxidative degradation of beer bittering principles: Product analysis with respect to lightstruck flavour formation. *Photochem. Photobiol. Sci.* **3**, 854–858 (2004).
16. Sturgeon, B. E. Light Absorption by Various Beer Bottle Glass : 1–4 (2008).
17. Department of Agriculture, U. S. *The Yearbook of Agriculture 1966. Protecting our food. The Yearbook of Agriculture 1966. Protecting our food.* (1966).
18. Hildrebrand, R. P., Lance, D. G., Clarke, B. J. & White, A. W. Preparation of a water soluble isomerised hop extract. US3956513 A (1974).

19. Van Aardt, M., Duncan, S. E., Marcy, J. E., Long, T. E., O'Keefe, S. F. & Nielsen-Sims, S. R. Aroma analysis of light-exposed milk stored with and without natural and synthetic antioxidants. *J. Dairy Sci.* **88**, 881–890 (2005).
20. Northrop-Clewes, C. A. & Thurnham, D. I. The discovery and characterization of riboflavin. *Ann. Nutr. Metab.* **61**, 224–230 (2012).
21. Webster, J. B. Changes in Aromatic Chemistry and Sensory Quality of Milk Due to Light Wavelength. (Virginia Polytechnic Institute and State University, 2006).
22. Wold, J. P., Skaret, J. & Dalsgaard, T. K. Assessment of the action spectrum for photooxidation in full fat bovine milk. *Food Chem.* **179**, 68–75 (2015).
23. Cardoso, D. R., Franco, D. W., Olsen, K., Andersen, M. L. & Skibsted, L. H. Reactivity of bovine whey proteins, peptides, and amino acids toward triplet riboflavin as studied by laser flash photolysis. *J. Agric. Food Chem.* **52**, 6602–6606 (2004).
24. Huvaere, K. & Skibsted, L. H. Light-induced oxidation of tryptophan and histidine. Reactivity of aromatic N-heterocycles toward triplet-excited flavins. *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 8049–8060 (2009).
25. Samuelsson, E. G. Model experiments on sunlight flavor in milk di- and tripeptides and methionine. *Proc. 16th Int. Dairy Congr.* **11**, 552 (1962).
26. Allen, C. & Parks, O. W. Evidence for Methional in Skim Milk Exposed to Sunlight. *J. Dairy Sci.* **58**, 1609–1611 (1975).
27. Jung, M. Y., Yoon, S. H., Lee, H. O. & Min, D. B. Singlet oxygen and ascorbic acid effects on dimethyl disulfide and off-flavor in skim milk exposed to light. *J. Food Sci.* **63**, 408–412 (1998).
28. Cardoso, D. R., Libardi, S. H. & Skibsted, L. H. Riboflavin as a photosensitizer. Effects on human health and food quality. *Food Funct.* **3**, 487–502 (2012).
29. Lindmark Månsson, H. Fatty acids in bovine milk fat. *Food Nutr. Res.* **52**, 1–4 (2008).
30. Para-Radanielina, M. P. Etude de la stabilité oxydative de l'acide linoléique conjuguée dans la matière grasse laitière. (Université de Laval, 2007).
31. Korycka-Dahl, M. & Richardson, T. Photogeneration of Superoxide Anion in Serum of Bovine Milk and in Model Systems Containing Riboflavin and Amino Acids. *J. Dairy Sci.* **61**, 400–407 (1978).
32. Sattar, A. & DeMan, J. M. Photooxidation of milk and milk products: A review. *C R C Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **7**, 13–37 (1975).
33. De Man, L., Postmus, E. & De Man, J. M. Textural and physical properties of north American stick margarines. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **67**, 323–328 (1990).
34. Hansen, E. & Skibsted, L. H. Light-induced oxidative changes in model dairy spread. Wavelength dependence of quantum yields. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 3090–3094 (2000).
35. Øyangen, J. *Photoprotection of riboflavin containing beverages.* https://brage.bibsys.no/xmlui/bitstream/handle/11250/246731/565884_FULLTEXT01.pdf?sequence=2 (2012).
36. Rychlik, S. & Grosch, W. *Compilation of odor thresholds, odor qualities and retention indices of key food odorants.* (1998).
37. Schrurs, J. PET barrière pour produits sensibles. *Liquide et conditionnement* (2008).
38. Van Aardt, M., Duncan, S. E., Marcy, J. E., Long, T. E. & Hackney, C. R. Effectiveness of poly(ethylene terephthalate) and high-density polyethylene in protection of milk flavor. *J. Dairy Sci.* **84**, 1341–1347 (2001).

39. Cardoso, D. R., Olsen, K. & Skibsted, L. H. Mechanism of deactivation of triplet-excited riboflavin by ascorbate, carotenoids, and tocopherols in homogeneous and heterogeneous aqueous food model systems. *J. Agric. Food Chem.* **55**, 6285–6291 (2007).
40. Seguin, N. Contribution à l'étude des goûts de lumière en Champagne. (Université de Reims Champagne-Ardenne, 1984).
41. D'Auria, M., Emanuele, L., Mauriello, G. & Racioppi, R. On the origin of 'Goût de Lumière' in champagne. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **158**, 21–26 (2003).
42. Vignault, A., González-Centeno, M. R., Pascual, O., Gombau, J., Jourdes, M., Moine, V., Iturmendi, N., Canals, J. M., Zamora, F. & Teissedre, P. L. Chemical characterization, antioxidant properties and oxygen consumption rate of 36 commercial oenological tannins in a model wine solution. *Food Chem.* **268**, 210–219 (2018).
43. Arnold, W. *The effect of ultraviolet light on photosynthesis. Journal of General Physiology* vol. 17 (1933).
44. Andrés-Lacueva, C., Mattivi, F. & Tonon, D. Determination of riboflavin, flavin mononucleotide and flavin-adenine dinucleotide in wine and other beverages by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr. A* **823**, 355–363 (1998).
45. Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. & Dubourdieu, D. *Traité d'oenologie tome 2*. (2012).
46. Champagne avec ou sans sulfites. [en ligne] Disponible à l'URL : <https://magazine.enviedechamp.com/2020/11/24/champagne-avec-ou-sans-sulfites/> (2021).
47. Elaboration de la vigne, dosage de la liqueur d'expédition. [en ligne] Disponible à l'URL : [https://www.champagne.fr/fr/vigne-vin/elaboration/dosage-liqueur-d-expedition#:~:text=demi-sec entre 32 et,grammes de sucre par litre](https://www.champagne.fr/fr/vigne-vin/elaboration/dosage-liqueur-d-expedition#:~:text=demi-sec%20entre%2032%20et,grammes%20de%20sucre%20par%20litre) (2021).
48. Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B. & Lonvaud, A. *Traité d'oenologie tome 1*. (2005).
49. Maujean, A. & Seguin, N. Contribution à l'étude des goûts de lumière dans les vins de Champagne. *Sci. Aliments* **3**, 589–601 (1983).
50. Wine flavours, faults and taints. [en ligne] Disponible à l'URL : https://www.awri.com.au/industry_support/winemaking_resources/sensory_assessment/recognition-of-wine-faults-and-taints/wine_faults/ (2021).
51. Solomon, M., Geue, J., Osidacz, P. & Siebert, T. Aroma detection threshold study of methanethiol in white and red wine. *AWRI Tech. Rev.* **186**, 8–10 (2010).
52. Gijs, L., Perpète, P., Timmermans, A. & Collin, S. 3-Methylthiopropionaldehyde As Precursor of Dimethyl Trisulfide in Aged Beers. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 6196–6199 (2000).
53. Mestres, M., Busto, O. & Guasch, J. Analysis of organic sulfur compounds in wine aroma. *J. Chromatogr. A* **881**, 569–581 (2000).
54. Chick, B. Y. & Roscoe, M. H. The dual nature of water-soluble assay of vitamin B2. II. *Biochem. J.* **22**, 790–799 (1928).
55. György, P. Investigations on the vitamin B2 complex the differentiation of lactoflavin and the "rat antipellagra" factor. *Biochem. J.* **29**, 741–759 (1935).
56. Kuhn, R. & Reinemund, K. Über die Synthese des 6.7.9-Trimethyl-flavins (Lumi-lactoflavins). *Ber. Deutsch. Chem. Ges.* **67**, 1932–1936 (1934).
57. Karrer, P., Schöpp, K. & Benz, F. Synthesen von Flavinen IV. *Helv. Chim. Acta* **18**, 426–429 (1935).
58. Côté, F. Contamination des solutions d'hyper alimentation intraveineuse néonatales, effet de l'ascorbylperoxyde au foie. (Université de Montréal, 2008).

59. Sobrado, P. Noncanonical reactions of flavoenzymes. *Int. J. Mol. Sci.* **13**, 14219–14242 (2012).
60. Cataldi, T. R. I., Nardiello, D., Scrano, L. & Scopa, A. Assay of riboflavin in sample wines by capillary zone electrophoresis and laser-induced fluorescence detection. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 6643–6647 (2002).
61. Mattivi, F., Monetti, A., Vrhovšek, U., Tonon, D. & Andrés-Lacueva, C. High-performance liquid chromatographic determination of the riboflavin concentration in white wines for predicting their resistance to light. *J. Chromatogr. A* **888**, 121–127 (2000).
62. Fracassetti, D., Gabrielli, M., Encinas, J., Manara, M., Pellegrino, I. & Tirelli, A. Approaches to prevent the light-struck taste in white wine. *Aust. J. Grape Wine Res.* **23**, 329–333 (2017).
63. Fracassetti, D., Limbo, S., Pellegrino, L. & Tirelli, A. Light-induced reactions of methionine and riboflavin in model wine: Effects of hydrolysable tannins and sulfur dioxide. *Food Chem.* **298**, 124952 (2019).
64. Silva, E., Edwards, A. M. & Pacheco, D. Visible light-induced photooxidation of glucose sensitized by riboflavin. *J. Nutr. Biochem.* **10**, 181–185 (1999).
65. Braverman, J. B. S. The mechanism of the interaction of sulphur dioxide with certain sugars. *J. Sci. Food Agric.* **4**, 540–547 (1953).
66. Lahoucarde, M. *Rapport de stage : le goût de lumière dans le champagne.* (2016).
67. Yang, S. F., Ku, H. S. & Pratt, H. K. Photochemical production of ethylene from methionine and its analogues in the presence of flavin mononucleotide. *J. Biol. Chem.* **242**, 5274–5280 (1967).
68. Ribéreau-Gayon, J. *Sciences et techniques du vin : traité d'œnologie.* (1982).
69. Robichaud, J. L. & Noble, A. C. Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. *J. Sci. Food Agric.* **53**, 343–353 (1990).
70. Montalti, M., Credi, A., Prodi, L. & Gandolfi, M. T. *Handbook of Third Edition. Handbook of Third Edition* (2006).
71. Brown, L. S. Elementary processes. *Quantum F. Theory* **21**, 192–219 (2013).
72. Diogo, A. N. Hétérocycles fluorescents pour la détection des protéines carbonylées associées au vieillissement et à l'inflammation. (Université de la Sorbonne, 2020).
73. Manna, B., Nandi, A. & Ghosh, R. Energy transfer-mediated white light emission from Nile red-doped 9,10-diphenylanthracene nanoaggregates upon excitation with near UV light. *Photochem. Photobiol. Sci.* **18**, 2748–2758 (2019).
74. Förster, T. & Förster, T. Transfer Mechanisms of Electronic Excitation Energy. *Radiat. Res. Suppl.* **2**, 326 (1960).
75. Didenko, V. V. DNA probes using fluorescence resonance energy transfer (fret): Designs and applications. *Biotechniques* **31**, 1106–1121 (2001).
76. Dexter, D. L. A theory of sensitized luminescence in solids. *J. Chem. Phys.* **21**, 836–850 (1953).
77. You, Z. Q., Hsu, C. P. & Fleming, G. R. Triplet-triplet energy-transfer coupling: Theory and calculation. *J. Chem. Phys.* **124**, 044506 (2006).
78. Meroni, D., Monguzzi, A. & Meinardi, F. Photon upconversion in multicomponent systems: Role of back energy transfer. *J. Chem. Phys.* **153**, 114302 (2020).
79. Ward, M. D. Photo-induced electron and energy transfer in non-covalently bonded supramolecular assemblies. *Chem. Soc. Rev.* **26**, 365–375 (1997).

80. Roslund, J., Roth, M., Guyon, L., Boutou, V., Courvoisier, F., Wolf, J. P. & Rabitz, H. Resolution of strongly competitive product channels with optimal dynamic discrimination: Application to flavins. *J. Chem. Phys.* **134**, 034511 (2011).
81. Huang, R., Hyun, J. K. & Min, D. B. Photosensitizing effect of riboflavin, lumiflavin, and lumichrome on the generation of volatiles in soy milk. *J. Agric. Food Chem.* **54**, 2359–2364 (2006).
82. Ashoori, M. & Saedisomeolia, A. Riboflavin (vitamin B2) and oxidative stress: A review. *Br. J. Nutr.* **111**, 1985–1991 (2014).
83. AHMED, S. Effect of Complexing Agents on the Photodegradation of Riboflavin in Aqueous Solution. (Baqai Medical University, 2009).
84. Jung, M. Y., Oh, Y. S., Kim, D. K., Kim, H. J. & Min, D. B. Photoinduced generation of 2,3-butanedione from riboflavin. *J. Agric. Food Chem.* **55**, 170–174 (2007).
85. Sheraz, M. A., Kazi, S. H., Ahmed, S., Anwar, Z. & Ahmad, I. Photo, thermal and chemical degradation of riboflavin. *Beilstein J. Org. Chem.* **10**, 1999–2012 (2014).
86. Decker, E. A., Elias, R. J. & McClements, D. J. *Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications*. vol. 2 (2010).
87. Oenoled. [en ligne] Disponible à l'URL : Oenoled.fr (2021).
88. Navarro, C. *Rapport de stage : le goût de lumière dans les Champagnes*. (2015).
89. Descoins, C., Meurens, M. & Mathiouthi, M. Influence de la translucidité de la bouteille sur l'apparition du goût de lumière dans le champagne. *Revue des Oenologues* vol. 120 1–4 (2006).
90. Conditionnement du vin, Verallia. [en ligne]. Disponible à l'URL : <https://www.vignovin.com/conditionnement-du-vin/catalogues-produits-materiels-conditionnement-vin/catalogue-bouteilles-vin-verallia> (2021).
91. Arapitsas, P., Dalledonne, S., Scholz, M., Catapano, A., Carlin, S. & Mattivi, F. White wine light-strike fault: A comparison between flint and green glass bottles under the typical supermarket conditions. *Food Packag. Shelf Life* **24**, 100492 (2020).
92. Duarte, I., Rotter, A., Malvestiti, A. & Silva, M. The role of glass as a barrier against the transmission of ultraviolet radiation: An experimental study. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* **25**, 181–184 (2009).
93. CP création, sleeve Champagne. [en ligne] Disponible à l'URL : <https://www.cpcreation.fr/sleeve-champagne.php> (2021).
94. Lukton, A. & Joslyn, M. A. Mechanism of Copper Casse Formation in White Table Wine. II. Turbidimetric and Other Physico-Chemical Considerations. *J. Food Sci.* **21**, 456–476 (1956).
95. OIV, code international des pratiques œnologiques. [en ligne] Disponible à l'URL : <https://www.oiv.int/fr/normes-et-documents-techniques/pratiques-œnologiques/code-international-des-pratiques-œnologiques> (2021).
96. Rira, M. Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical. (Université de Clermont-Auvergne, 2019).
97. Pascual, O., Vignault, A., Gombau, J., Navarro, M., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Canals, J. M., Hermosín-Gutiérrez, I., Teissedre, P. L. & Zamora, F. Oxygen consumption rates by different oenological tannins in a model wine solution. *Food Chem.* **234**, 26–32 (2017).
98. Lagunes, I. & Trigos, Á. Photo-oxidation of ergosterol: Indirect detection of antioxidants photosensitizers or quenchers of singlet oxygen. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **145**, 30–34 (2015).

99. Blouin, J. & Cruège, J. *Analyse et composition des vins*. (2003).
100. García, J. & Silva, E. Flavin-sensitized photooxidation of amino acids present in a parenteral nutrition infusate: Protection by ascorbic acid. *J. Nutr. Biochem.* **8**, 341–345 (1997).
101. Nishibori, N., Kuroda, A., Yamada, O. & Goto-Yamamoto, N. Factors affecting dimethyl trisulfide formation in wine. *Food Sci. Technol. Res.* **23**, 241–248 (2017).
102. Mestres, M., Busto, O. & Guasch, J. Headspace solid-phase microextraction analysis of volatile sulphides and disulphides in wine aroma. *J. Chromatogr. A* **808**, 211–218 (1998).
103. Lestremau, F., Desauziers, V. & Fanlo, J. L. Headspace SPME followed by GC/PFPD for the analysis of malodorous sulfur compounds in liquid industrial effluents. *Anal. Bioanal. Chem.* **378**, 190–196 (2004).
104. Kuhn, H. J., Braslavsky, S. E. & Schmidt, R. INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY - Chemical Actinometry. *IUPAC Tech. Rep.* **76**, 1–47 (2004).
105. Hatchard, C. G. & Parker, C. A. A new sensitive chemical actinometer - II. Potassium ferrioxalate as a standard chemical actinometer. *Proc. R. Soc. London. Ser. A. Math. Phys. Sci.* **235**, 518–536 (1956).
106. Thorlab: optical power and energy meters. [en ligne] Disponible à l'URL : https://www.thorlabs.com/navigation.cfm?guide_id=37 (2021).
107. Engineering toolBox, organic sulfur compounds - physical data. [en ligne] Disponible à l'URL : https://www.engineeringtoolbox.com/boiling-melting-organic-sulfur-sulfide-thiophene-structure-mercaptane-thiol-density-molweight-d_1946.html (2021).
108. López, R., Lapeña, A. C., Cacho, J. & Ferreira, V. Quantitative determination of wine highly volatile sulfur compounds by using automated headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-pulsed flame photometric detection. Critical study and optimization of a new procedure. *J. Chromatogr. A* **1143**, 8–15 (2007).
109. Slaghenaufi, D., Tonidandel, L., Moser, S., Román Villegas, T. & Larcher, R. Rapid Analysis of 27 Volatile Sulfur Compounds in Wine by Headspace Solid-Phase Microextraction Gas Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Food Anal. Methods* **10**, 3706–3715 (2017).
110. Catalan, L. J. J., Liang, V. & Jia, C. Q. Comparison of various detection limit estimates for volatile sulphur compounds by gas chromatography with pulsed flame photometric detection. *J. Chromatogr. A* **1136**, 89–98 (2006).
111. Pawliszyn, J. & al. Theory of Solid-Phase Microextraction. *J. Chromatographic Sci.* **38**, 270–278 (2000).
112. Darriet, P., Tominaga, T., Lavigne, V., Boidron, J.-N. & Dubourdieu, D. Identification of a Powerful Aromatic Component of VxS vinifera L. var. Sauvignon Wines: 4-Mercapto-4-methylpentan-2-one. *Flavour Fragr. J.* **10**, 385–392 (1995).
113. Tominaga, T., Murat, M. L. & Dubourdieu, D. Development of a Method for Analyzing the Volatile Thiols Involved in the Characteristic Aroma of Wines Made from Vitis vinifera L. Cv. Sauvignon Blanc. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 1044–1048 (1998).
114. Mestres, M., Sala, C., Martí, M. P., Busto, O. & Guasch, J. Headspace solid-phase microextraction of sulphides and disulphides using Carboxen-polydimethylsiloxane fibers in the analysis of wine aroma. *J. Chromatogr. A* **835**, 137–144 (1999).
115. Fang, Y. & Qian, M. C. Sensitive quantification of sulfur compounds in wine by headspace solid-phase microextraction technique. *J. Chromatogr. A* **1080**, 177–185 (2005).
116. Ahmad, I., Fasihullah, Q., Noor, A., Ansari, I. A. & Ali, Q. N. M. Photolysis of riboflavin in aqueous solution: A kinetic study. *Int. J. Pharm.* **280**, 199–208 (2004).

117. Zhou, X., Lu, Y., Wang, W., Borhan, B. & Reid, G. E. 'Fixed charge' chemical derivatization and data dependant multistage tandem mass spectrometry for mapping protein surface residue accessibility. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **21**, 1339–1351 (2010).
118. Kominami, S. A radical cation produced in a -irradiated single crystal of DL-methionine as studied by electron spin resonance and optical absorption spectroscopy. *J. Phys. Chem.* **76**, 1729–1733 (1972).
119. Naito, A., Kominami, S., Akasaka, K. & Hatano, H. Nature of a cation radical in γ -irradiated N-acetyl DL-methionine as disclosed from 33S-hyperfine coupling. *Chem. Phys. Lett.* **47**, 171–173 (1977).
120. Chaudhri, S. A., Mohan, H., Anklam, E. & Asmus, K. D. Three-electron bonded σ/σ^* radical cations from mixedly substituted dialkyl sulfides in aqueous solution studied by pulse radiolysis. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **3**, 383–390 (1996).
121. Yashiro, H., White, R. C., Yurkovskaya, A. V. & Forbes, M. D. E. Methionine radical cation: Structural studies as a function of pH using X- and Q-band time-resolved electron paramagnetic resonance spectroscopy. *J. Phys. Chem. A* **109**, 5855–5864 (2005).
122. Asaduzzaman, M., Scampicchio, M., Biasioli, F., Bremer, P. J. & Silcock, P. Methanethiol formation during the photochemical oxidation of methionine-riboflavin system. *Flavour Fragr. J.* **35**, 34–41 (2020).
123. Lee, J. H. & Min, D. B. Changes of headspace volatiles in milk with riboflavin photosensitization. *J. Food Sci.* **74**, 563–568 (2009).
124. Zardin, E., Silcock, P., Siefarth, C., Bremer, P. J. & Beauchamp, J. Dynamic changes in the volatiles and sensory properties of chilled milk during exposure to light. *Int. Dairy J.* **62**, 35–38 (2016).
125. Peppard, T. L. Dimethyl Trisulphide, Its Mechanism of Formation in Hop Oil and Effect on Beer Flavour. *J. Inst. Brew.* **84**, 337–340 (1978).
126. Nedjma, M. & Hoffmann, N. Hydrogen Sulfide Reactivity with Thiols in the Presence of Copper(II) in Hydroalcoholic Solutions or Cognac Brandies: Formation of Symmetrical and Unsymmetrical Dialkyl Trisulfides. *J. Agric. Food Chem.* **44**, 3935–3938 (1996).
127. Dippe, M., Brandt, W., Rost, H., Porzel, A., Schmidt, J. & Wessjohann, L. A. Rationally engineered variants of S-adenosylmethionine (SAM) synthase: Reduced product inhibition and synthesis of artificial cofactor homologues. *Chem. Commun.* **51**, 3637–3640 (2015).
128. Dias, D. A., Clark, A. C., Smith, T. A., Ghiggino, K. P. & Scollary, G. R. Wine bottle colour and oxidative spoilage: Whole bottle light exposure experiments under controlled and uncontrolled temperature conditions. *Food Chem.* **138**, 2451–2459 (2013).
129. Min, D. B. & Boff, J. M. Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **1**, 58–72 (2002).
130. Grant-Preece, P., Barril, C., Schmidtke, L. M., Scollary, G. R. & Clark, A. C. Light-induced changes in bottled white wine and underlying photochemical mechanisms. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **57**, 743–754 (2017).
131. Barata-Vallejo, S., Ferreri, C., Postigo, A. & Chatgililoglu, C. Radiation Chemical Studies of Methionine in Aqueous Solution : *Cheical Res. Toxicol.* **23**, 258–263 (2010).
132. Fracassetti, D., Tirelli, A., Limbo, S., Mastro, M., Pellegrino, L. & Ragg, E. M. Investigating the Role of Antioxidant Compounds in Riboflavin-Mediated Photo-Oxidation of Methionine: A $^1\text{H-NMR}$ Approach. *ACS Omega* **5**, 26220–26229 (2020).
133. Danilewicz, J. C. & Wallbridge, P. J. Further studies on the mechanism of interaction of polyphenols, oxygen, and sulfite in wine. *Am. J. Enol. Vitic.* **61**, 166–175 (2010).
134. Divol, B., Du Toit, M. & Duckitt, E. Surviving in the presence of sulphur dioxide: Strategies developed by wine yeasts. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **95**, 601–613 (2012).

135. Barton, T. J., Bull, L. M., Klemperer, W. G., Loy, D. A., McEnaney, B., Misono, M., Monson, P. A., Pez, G., Schere, G. W., Vartuli, J. C., *et al.* Tailored porous materials. *Chem. Mater.* **11**, 2633–2656 (1999).
136. La réglementation des matériaux au contact des aliments. Disponible à l'URL : <https://www.contactalimentaire.fr/fr/reglementation-materiaux-contact-aliments> (2021).
137. Sun, L. B., Li, A. G., Liu, X. D., Liu, X. Q., Feng, D., Lu, W., Yuan, D. & Zhou, H. C. Facile fabrication of cost-effective porous polymer networks for highly selective CO₂ capture. *J. Mater. Chem. A* **3**, 3252–3256 (2015).
138. Alsaiee, A., Smith, B. J., Xiao, L., Ling, Y., Helbling, D. E. & Dichtel, W. R. Rapid removal of organic micropollutants from water by a porous β -cyclodextrin polymer. *Nature* **529**, 190–194 (2016).
139. Budd, P. M., Ghanem, B., Msayib, K., McKeown, N. B. & Tattershall, C. A nanoporous network polymer derived from hexaazatrinaphthylene with potential as an adsorbent and catalyst support. *J. Mater. Chem.* **13**, 2721–2726 (2003).
140. Sing, K. S. W., Everett, D. H., Haul, R. A. W., Moscou, L., Pierotti, R. A., Rouquerol, J. & Siemieniewska, T. Reporting Physisorption Data for Gas/Solid Systems with Special Reference to the Determination of Surface Area and Porosity. *Pure Appl. Chem.* **57**, 603–619 (1985).
141. McKeown, N. B., Makhseed, S. & Budd, P. M. Phthalocyanine-based nanoporous network polymers. *Chem. Commun.* **2**, 2780–2781 (2002).
142. McKeown, N. B., Hanif, S., Msayib, K., Tattershall, C. E. & Budd, P. M. Porphyrin-based nanoporous network polymers. *Chem. Commun.* **2**, 2782–2783 (2002).
143. Feng, L. J., Chen, Q., Zhu, J. H., Liu, D. P., Zhao, Y. C. & Han, B. H. Adsorption performance and catalytic activity of porous conjugated polyporphyrins via carbazole-based oxidative coupling polymerization. *Polym. Chem.* **5**, 3081–3088 (2014).
144. Oveisi, A. R., Zhang, K., Khorramabadi-Zad, A., Farha, O. K. & Hupp, J. T. Stable and catalytically active iron porphyrin-based porous organic polymer: Activity as both a redox and Lewis acid catalyst. *Sci. Rep.* **5**, 10621 (2015).
145. Bowker, M. *The Basis and Applications of Heterogeneous Catalysis*. (1998).
146. Kadish, K. M., Smith, K. M. & Guilard, R. *The Porphyrin Handbook*. *The Porphyrin Handbook* vol. 11 (2012).
147. Costa e Silva, R., Da Silva, L. O., De Andrade Bartolomeu, A., Brocksom, T. J. & De Oliveira, K. T. Recent applications of porphyrins as photocatalysts in organic synthesis: Batch and continuous flow approaches. *Beilstein J. Org. Chem.* **16**, 917–955 (2020).
148. Mahmood, A., Hu, J. Y., Xiao, B., Tang, A., Wang, X. & Zhou, E. Recent progress in porphyrin-based materials for organic solar cells. *J. Mater. Chem. A* **6**, 16769–16797 (2018).
149. Kou, J., Dou, D. & Yang, L. Porphyrin photosensitizers in photodynamic therapy and its applications. *Oncotarget* **8**, 81591–81603 (2017).
150. Papkovsky, D. B., O'Riordan, T. & Soini, A. Phosphorescent porphyrin probes in biosensors and sensitive bioassays. *Biochem. Soc. Trans.* **28**, 74–77 (2000).
151. Dixon, D. W. *The Colours of Life: An Introduction to the Chemistry of Porphyrins and Related Compounds*. Lionel R. Milgrom. *The Quarterly Review of Biology* vol. 75 (2000).
152. Samajdar, R. N., Manogaran, D., Yashonath, S. & Bhattacharyya, A. J. Using porphyrin-amino acid pairs to model the electrochemistry of heme proteins: Experimental and theoretical investigations. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **20**, 10018–10029 (2018).
153. Ellis, P. E., Jones, R. D. & Basolo, F. Sulfur base ligation to iron(II) and cobalt(II) porphyrins. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **76**, 5418–5420 (1979).

154. Mizutani, T., Wada, K. & Kitagawa, S. Porphyrin receptors for amines, amino acids, and oligopeptides in water. *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 11425–11431 (1999).
155. Foster, N., Singhal, A. K., Smith, M. W., Marcos, N. G. & Schray, K. J. Interactions of porphyrins and transfer RNA. *BBA - Gene Struct. Expr.* **950**, 118–131 (1988).
156. Copper - statistics & facts. [en ligne] Disponible à l'URL : <https://www.statista.com/topics/1409/copper/#dossierSummary> (2021).
157. Taylor, A. A., Tsuji, J. S., Garry, M. R., McArdele, M. E., Goodfellow, W. L., Adams, W. J. & Menzie, C. A. Critical Review of Exposure and Effects: Implications for Setting Regulatory Health Criteria for Ingested Copper. *Environ. Manage.* **65**, 131–159 (2020).
158. Pakiari, A. H. & Jamshidi, Z. Nature and strength of MS bonds (M = Au, Ag, and Cu) in binary alloy gold clusters. *J. Phys. Chem. A* **114**, 9212–9221 (2010).
159. Short, J. M., Berriman, J. A., Kübel, C., El-Hachemi, Z., Naubron, J. V. & Balaban, T. S. Electron cryo-microscopy of TPPS4×2HCl tubes reveals a helical organisation explaining the origin of their chirality. *ChemPhysChem* **14**, 3209–3214 (2013).
160. Sobczyński, J., Tønnesen, H. H. & Kristensen, S. Influence of aqueous media properties on aggregation and solubility of four structurally related meso-porphyrin photosensitizers evaluated by spectrophotometric measurements. *Pharmazie* **68**, 100–109 (2013).
161. Dolphin, D. *The porphyrins*. (1979).
162. Maiti, N. C., Ravikanth, M., Mazumdar, S. & Periasamy, N. Fluorescence dynamics of noncovalently linked porphyrin dimers and aggregates. *J. Phys. Chem.* **99**, 17192–17197 (1995).
163. Maiti, N. C., Mazumdar, S. & Periasamy, N. J- and H-aggregates of porphyrin - Surfactant complexes: Time-resolved fluorescence and other spectroscopic studies. *J. Phys. Chem. B* **102**, 1528–1538 (1998).
164. Li, X., Zheng, Z., Han, M., Chen, Z. & Zou, G. Tuning J-aggregates of tetra(p-hydroxyphenyl)porphyrin by the headgroups of ionic surfactants in acidic nonionic micellar solution. *J. Phys. Chem. B* **111**, 4342–4348 (2007).
165. Pasternack, R. F., Huber, P. R., Boyd, P., Engasser, G., Francesconi, L., Gibbs, E., Fasella, P., Ventura, G. C. & Hinds, L. D. On the Aggregation of Meso-Substituted Water-Soluble Porphyrins. *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 4511–4517 (1972).
166. Choi, M. Y., Pollard, J. A., Webb, M. A. & McHale, J. L. Counterion-dependent excitonic spectra of tetra(p-carboxyphenyl)porphyrin aggregates in acidic aqueous solution. *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 810–820 (2003).
167. Ma, H. L. & Jin, W. J. Studies on the effects of metal ions and counter anions on the aggregate behaviors of meso-tetrakis(p-sulfonatophenyl)porphyrin by absorption and fluorescence spectroscopy. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **71**, 153–160 (2008).
168. Trapani, M., Occhiuto, I. G., Zagami, R., De Luca, G., Castriciano, M. A., Romeo, A., Scolaro, L. M. & Pasternack, R. F. Mechanism for Copper(II)-Mediated Disaggregation of a Porphyrin J-Aggregate. *ACS Omega* **3**, 18843–18848 (2018).
169. Occhiuto, I. G., Zagami, R., Trapani, M., Castriciano, M. A., Romeo, A. & Scolaro, L. M. Kinetic Investigation on Tetrakis(4-Sulfonatophenyl)Porphyrin J-Aggregates Formation Catalyzed by Cationic Metallo-Porphyrins. *Molecules* **25**, 5742–5754 (2020).
170. Gandini, S. C. M., Gelamo, E. L., Itri, R. & Tabak, M. Small angle X-ray scattering study of meso-tetrakis (4-sulfonatophenyl) porphyrin in aqueous solution: A self-aggregation model. *Biophys. J.* **85**, 1259–1268 (2003).

171. Castriciano, M. A., Romeo, A., Villari, V., Angelini, N., Micali, N. & Scolaro, L. M. Aggregation behavior of tetrakis(4-sulfonatophenyl)porphyrin in AOT/water/decane microemulsions. *J. Phys. Chem. B* **109**, 12086–12092 (2005).
172. Hollingsworth, J. V., Joubert-Richard, A., Vicente, M. G. H. & Russo, P. Characterization of the self-assembly of meso-tetra (4- sulfonatophenyl) porphyrin (H₂TPPS₄-) in aqueous solutions. *Biomacromolecules* **13**, 60–72 (2012).
173. Ohno, O., Kaizu, Y. & Kobayashi, H. J-aggregate formation of a water-soluble porphyrin in acidic aqueous media. *J. Chem. Phys.* **99**, 4128–4139 (1993).
174. Chen, D. M., Zhang, Y. H., He, T. J. & Liu, F. C. Raman and UV-visible absorption spectra of ion-paired aggregates of copper porphyrins. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **58**, 2291–2297 (2002).
175. Hugerat, M., Est, A. Van Der, Ojadi, E., Biczok, L., Linschitz, H., Levanon, H. & Stehlik, D. Transient EPR Studies of Ion-Paired Metalloporphyrin Heterodimers Muhamad. *J. Phys. Chem.* **100**, 495–500 (1996).
176. Krishnamurthy, M., Sutter, J. R. & Hambright, P. Monomer-dimer equilibration of water-soluble porphyrins as a function of the co-ordinated metal ion. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 13–14 (1975).
177. Shinozaki, K., Miwa, K., Yokoyama, H. & Matsuzawa, H. X-ray diffraction study on the aggregate structure of 5,10,15,20-tetra(4-sulfophenyl)porphinatopalladium(II)(4-) in aqueous solution. *J. Chem. Soc. - Faraday Trans.* **92**, 1935–1939 (1996).
178. Ye, B. H. & Naruta, Y. A novel method for the synthesis of regiospecifically sulfonated porphyrin monomers and dimers. *Tetrahedron* **59**, 3593–3601 (2003).
179. Laha, J. K., Dhanalekshmi, S., Taniguchi, M., Ambroise, A. & Lindsey, J. S. A Scalable Synthesis of Meso-Substituted Dipyrromethanes. *Org. Process Res. Dev.* **7**, 799–812 (2003).
180. Geier, G. R., Littler, B. J. & Lindsey, J. S. Investigation of porphyrin-forming reactions. Part 3. The origin of scrambling in dipyrromethane + aldehyde condensations yielding trans-A₂B₂-tetraarylporphyrins. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 701–711 (2001).
181. Lindsey, J. S. Synthetic routes to meso-patterned porphyrins. *Acc. Chem. Res.* **43**, 300–311 (2010).
182. Ka, Y. L., Chang, G. L. & Jae, N. K. A practical synthesis of N-tosylimines of arylaldehydes. *Tetrahedron Lett.* **44**, 1231–1234 (2003).
183. Temelli, B. & Unaleroglu, C. Synthesis of meso-tetraphenyl porphyrins via condensation of dipyrromethanes with N-tosyl imines. *Tetrahedron* **65**, 2043–2050 (2009).
184. Littler, B. J., Miller, M. A., Hung, C. H., Wagner, R. W., O’Shea, D. F., Boyle, P. D. & Lindsey, J. S. Refined synthesis of 5-substituted dipyrromethanes. *J. Org. Chem.* **64**, 1391–1396 (1999).
185. Lee, C. H. & S. Lindsey, J. One-flask synthesis of meso-substituted dipyrromethanes and their application in the synthesis of trans-substituted porphyrin building blocks. *Tetrahedron* **50**, 11427–11440 (1994).
186. Hirao, K. Theoretical study of the Q and B bands of free-base, magnesium, and zinc porphyrins, and their derivatives. *J. Phys. Chem. A* **103**, 1894–1904 (1999).
187. Occhiuto, I. G., Castriciano, M. A., Trapani, M., Zagami, R., Romeo, A., Pasternack, R. F. & Scolaro, L. M. Controlling j-aggregates formation and chirality induction through demetallation of a zinc(II) water soluble porphyrin. *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 4001–4017 (2020).
188. Amiri, N., Nour, S., Hajji, M., Roisnel, T., Guerfel, T., Simonneaux, G. & Nasri, H. Synthesis, structure, photophysical properties and biological activity of a cobalt(II) coordination complex with 4,4'-bipyridine and porphyrin chelating ligands. *J. Saudi Chem. Soc.* **23**, 781–794 (2019).

189. Cole, S. J., Curthoys, G. C., Magnusson, E. A. & Phillips, J. N. Ligand Binding by Metalloporphyrins. II. Thermodynamic Functions for the Addition of Substituted Pyridines to Nickel(II) and Zinc(II) Porphyrins. *Inorg. Chem.* **11**, 1024–1028 (1972).
190. Nappa, M. & Valentine, J. S. The Influence of Axial Ligands on Metalloporphyrin Visible Absorption Spectra. Complexes of Tetraphenylporphinatozinc. *J. Am. Chem. Soc.* **100**, 5075–5080 (1978).
191. Campbell, W. M., Jolley, K. W., Wagner, P., Wagner, K., Walsh, P. J., Gordon, K. C., Schmidt-Mende, L., Nazeeruddin, M. K., Wang, Q., Grätzel, M., *et al.* Highly efficient porphyrin sensitizers for dye-sensitized solar cells. *J. Phys. Chem. C* **111**, 11760–11762 (2007).
192. Swamy P, C. A., Mukherjee, S. & Thilagar, P. Multichannel-emissive V-shaped boryl-BODIPY dyads: Synthesis, structure, and remarkably diverse response toward fluoride. *Inorg. Chem.* **53**, 4813–4823 (2014).
193. Vauzour, D. & Vercauteren, M. J. Étude des propriétés biologiques des constituants des vins de Champagne. (Université de Montpellier I, 2004).
194. Fracassetti, D., Gabrielli, M., Encinas, J., Manara, M., Pellegrino, I. & Tirelli, A. Approaches to prevent the light-struck taste in white wine. *Aust. J. Grape Wine Res.* **23**, 329–333 (2017).
195. Pripis-Nicolau, L., De Revel, G., Bertrand, A. & Lonvaud-Funel, A. Methionine catabolism and production of volatile sulphur compounds by *Cenococcus oeni*. *J. Appl. Microbiol.* **96**, 1176–1184 (2004).
196. Ugliano, M. Oxygen contribution to wine aroma evolution during bottle aging. *J. Agric. Food Chem.* **61**, 6125–6136 (2013).
197. Ugliano, M., Kwiatkowski, M., Vidal, S., Capone, D., Siebert, T., Dieval, J. B., Aagaard, O. & Waters, E. J. Evolution of 3-mercaptohexanol, hydrogen sulfide, and methyl mercaptan during bottle storage of Sauvignon blanc wines. Effect of glutathione, copper, oxygen exposure, and closure-derived oxygen. *J. Agric. Food Chem.* **59**, 2564–2572 (2011).
198. Ugliano, M., Dieval, J. B., Siebert, T. E., Kwiatkowski, M., Aagaard, O., Vidal, S. & Waters, E. J. Oxygen consumption and development of volatile sulfur compounds during bottle aging of two Shiraz wines. influence of pre- and postbottling controlled oxygen exposure. *J. Agric. Food Chem.* **60**, 8561–8570 (2012).
199. Limmer, A. Suggestions for dealing with post-bottling sulfides. *Aust. New Zeal. Grapegrow. Winemak.* **476**, 67–76 (2005).
200. Wackerbarth, I., Widhyadnyani, N. N. A. T., Schmitz, S., Stirnat, K., Butsch, K., Pantenburg, I., Meyer, G. & Klein, A. Cu (II) complexes and coordination polymers with pyridine or pyrazine amides and amino benzamides—structures and EPR patterns. *Inorganics* **8**, 1–20 (2020).
201. Ainscough, E. W., Brodie, A. M., Denny, W. A., Finlay, G. J. & Ranford, J. D. Nitrogen, sulfur and oxygen donor adducts with copper(II) complexes of antitumor 2-formylpyridinethiosemicarbazone analogs: Physicochemical and cytotoxic studies. *J. Inorg. Biochem.* **70**, 175–185 (1998).
202. Vilela-Moura, A., Schuller, D., Mendes-Faia, A. & Côte-Real, M. Effects of acetic acid, ethanol, and SO₂ on the removal of volatile acidity from acidic wines by two *Saccharomyces cerevisiae* commercial strains. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **87**, 1317–1326 (2010).

Abréviations

Amu : unités de masse atomique
AOC : Appellation d'origine contrôlée
APTS : acide paratoluènesulfonique
BEN : Bentonite
BSTFA : *N,O*-Bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide
CAR : Carboxen
CMF : Carboxyméthylflavine
CHA : Charbon actif
CHCA : Acide alpha-cyano-4-hydroxycinnamique
CRDF : Cyclodéhydroriboflavine
DEL : Diode électroluminescente
DI : Immersion directe
DDQ : 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
DMDS : Diméthyldisulfure
DMF : *N,N*-diméthylformamide
DMSO : Diméthylsulfoxyde
DMTS : Diméthyltrisulfure
DTA : Ethyle dithioacétate
DVB : Divinylbenzène
ESI-MS : Ionisation par électrospray
EPR : Résonance paramagnétique électronique
FAD : Flavine adénine dinucléotide
FID : Détecteur à ionisation de flamme
FMN : Flavine mononucléotide
GC : Chromatographie en phase gazeuse
HOMO : Orbitale moléculaire occupée la plus haute en énergie
HCTL : Homocystéine thiolactone
HS : Espace de tête
ISC : Croisement inter-système
LC : Lumichrome
LF : Lumiflavine
LUMO : Orbitale moléculaire inoccupée la plus basse en énergie
MALDI : Désorption-ionisation laser assistée par matrice
MBA : Acide 4-méthyl(thiobutanoïque)
MBT : 3-méthyl-2-butène-1-thiol
Met : Méthionine
MHz : Megahertz
MP : 3-(méthylthio)propylamine
MS : Spectrométrie de masse
NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NIR : Infrarouge proche
P-CDP : Polymères poreux à base de β -cyclodextrines

PDMS : Polydiméthylsiloxane
PE-HD : Polyéthylène à haute densité
PETE : Polytéréphtalate d'éthylène
PFPD : Détecteur photométrique à flamme pulsée
PTFE : Polytétrafluoroéthylène
PTR-MS : Spectrométrie de masse par transfert de proton
QSE : Qualité / Sécurité / Environnement
Rf / RBF : Riboflavine
RMN : Résonance magnétique nucléaire
RPM : Rotations par minute
RT : Température ambiante
SAXS : Diffusion des rayons X aux petits angles
S_{BET} : Surface Brunauer-Emmett-Teller
SPME : Micro-extraction en phase solide
TAPP : *méso*-Tétrakis(4-triméthylanilinium) porphyrine
TCMS : Triméthylchlorosilane
TCPP : *méso*-Tétrakis(4-carboxyphényle) porphyrine
TEA : Triéthylamine
TFA: Acide trifluoroacétique
TFAA: Anhydride trifluoroacétique
THPP : *méso*-Tétrakis(4-hydroxyphényle) porphyrine
THF: Tétrahydrofurane
TMS : Tétraméthylsilane
TOF : Temps de vol
TPP : Tétraphénylporphyrine
TR-EPR : Résonance paramagnétique nucléaire résolue dans le temps
TSPP : *méso*-Tétrakis(4-sulfonatophényle) porphyrine
UV : Ultra-violet
Vis : Visible

Partie expérimentale

Généralités

Sauf indication contraire, tous les réactifs et solvants ont été obtenus chez les fournisseurs commerciaux habituels et ont été utilisés sans purification supplémentaire. Le pyrrole utilisé provient d'une bouteille fraîchement ouverte. Les solvants anhydres (DCM, THF, Et₂O) ont été obtenus par traitement avec le système Inert PureSolv MD5[®] et la teneur en H₂O résiduelle était mesurée chaque semaine (concentration inférieure à 10ppm). Les autres solvants anhydres ont été obtenus chez les fournisseurs commerciaux habituels et stockés sur tamis moléculaire. Les solvants ont été évaporés sous pression réduite en utilisant un évaporateur rotatif Büchi rotavapor R-114. L'eau ultra-pure a été obtenue par traitement de l'eau de ville avec un système de purification Milli-Q[®] Direct.

Les purifications par membrane de dialyse ont été faites avec une membrane en cellulose (Viskase, 28/30, limite d'exclusion : 14000 MW). Elles ont été réalisées dans un bécher d'une contenance de 2L. La membrane de dialyse était plongée pendant 15 min dans l'eau ultra-pure à ébullition puis rincée avec de l'eau ultra-pure pendant 2h supplémentaires. Un bout de la membrane était ensuite fermé hermétiquement avec une pince. La porphyrine était diluée dans un minimum d'eau ultra-pure et était transférée à l'intérieur de la membrane. L'autre bout de la membrane était ensuite fermé hermétiquement avec une pince. La membrane contenant la porphyrine était plongée dans un bécher rempli d'eau ultra-pure sous faible agitation. La purification se déroulait pendant 4 jours et l'eau du bécher était changée tous les jours.

Les analyses par chromatographie sur couche mince ont été réalisées sur des plaques de silice 60 F₂₅₄ en aluminium et commercialisées par Merck. Les chromatographies sur colonne de gel de silice ont été faites en utilisant la silice 60, 40-60 μm, (230-400 mesh) commercialisée par Merck. Les chromatographies sur colonne avec Al₂O₃ ont été faites avec de l'alumine neutre activée. La visualisation des plaques chromatographiques a été faite en utilisant une lampe UV à 254 ou 365 nm.

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C ont été mesurés avec des spectromètres Bruker Ultra Shield (300 MHz) et Bruker Ascend (400 MHz). Les déplacements chimiques ^1H sont exprimés en parties par millions (δ) par rapport au TMS en utilisant les pics de solvants résiduels comme références (CDCl_3 : ^1H δ 7,26 ppm; ^{13}C δ 77,16 ppm; D_2O : ^1H δ 4,79 ppm; d_6 -DMSO : ^1H δ 2,50 ppm). Les constantes de couplages (J) sont exprimées en Hertz (Hz). La multiplicité des pics est exprimée avec les abréviations suivantes : s = singulet; d = doublet; t = triplet; m = multiplet. Des combinaisons de ces abréviations ont été utilisées (par exemple, dt = doublet de triplet).

Les spectres ESI-MS ont été mesurés avec un spectromètre de masse QExactive de ThermoFischer de type Orbitrap équipé d'une source d'ionisation ESI (électrospray). Les spectres MALDI ont été mesurés avec un spectromètre de masse autoflexTM Max équipé d'un analyseur TOF. Les spectres UV-Visibles ont été mesurés avec un spectrophotomètre Perkin Elmer 750 UV/Vis/NIR.

L'analyse des espèces soufrées volatiles formées par SPME-GC-MS a été faite avec des fibres SPME CAR/PDMS, 75 μm , 24 ga de Supelco®. Un système d'injection automatique TriplusTM de ThermoFischer couplé avec une Trace GC Ultra (colonne Pima-WAX plus 30m x 0,25mm x 0,25 μm) et un spectromètre de masse Thermo ISQ® a été utilisé. Le mode appel d'ions a été utilisé pour quantifier les aires de pics des composés d'intérêt.

L'analyse des espèces soufrées volatiles par SPME-GC-PFPD a été réalisée avec des fibres SPME CAR/PDMS, 75 μm , 24 ga de Supelco®. Un système d'extraction et d'injection manuel a été utilisé (porte-fibre de Supelco®). Une GC Agilent 7890B équipée d'une colonne Agilent DB-WAX (30m x 0,25mm x 0,25 μm) a été utilisée pour la séparation des composés et la détection des molécules a été faite avec le PFPD 5383 d'OI-Analytics en mode linéaire. Le temps d'équilibre des échantillons était de 15 min et la durée d'extraction des composés par la fibre SPME (DI) était également de 15 min.

Les solutions modèles ont été préparées en ajoutant 3,5g d'acide tartrique à 1L d'un mélange eau / éthanol (88/12). Le pH de la solution a été ajusté à 3,5 avec une solution de NaOH à 1M. Les irradiations de solutions modèles ont été réalisées avec un banc optique constitué d'une lampe xénon-mercure (200W), d'un monochromateur et d'un porte-

échantillon avec un agitateur magnétique fabriqué au laboratoire. Les irradiations de solutions modèles ont également été réalisées avec des DEL de Roithner LaserTechnik GmbH® (440nm) implantées sur un système d'éclairage au laboratoire.

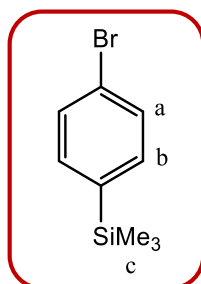
La condition nommée « anaérobie » correspond à des irradiations pour laquelle la solution a été purgée avec un flux d'argon pendant 20 min et qui n'est pas en contact avec l'air pendant l'irradiation. La condition nommée « aérobie » correspond à des irradiations pour lesquelles la solution n'a pas été purgée avant irradiation. Enfin, la condition nommée « semi-anaérobie » correspond à des irradiations réalisées au contact de l'air mais pour lesquelles la solution a été purgée au préalable.

Le flux photonique incident a été déterminé en utilisant un puissance-mètre composé d'une console PM100A et d'un capteur S170C (photodiode, 100 mW, 350 nm – 1100 nm) commercialisés par Thorlabs Inc. La surface d'irradiation délimitée par une fenêtre en aluminium est de 1,3 cm². La comparaison avec le ferrioxalate de potassium a été faite en utilisant des solutions de ferrioxalate de potassium à 6 mM dans l'acide sulfurique à 0,05 M et de 1,10-phénanthroline à 5,5 mM dans l'acide sulfurique à 0,5 M.

Les irradiations de solutions authentiques de Champagne au laboratoire ont été réalisées avec un simulateur solaire Suntest Q-Sun 1000 de Q-Lab®. Les irradiations des bouteilles de Champagne dans les locaux de G.H.Mumm ont été réalisées avec un Suntest XLS⁺ commercialisé par Atlas MTS.

Synthèses

4-Bromotriméthylsilylbenzène **4a**¹⁷⁸



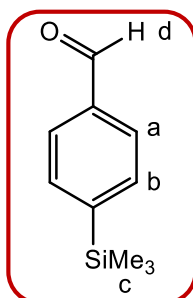
A une solution de 1,4-dibromobenzène (6g ; 25,4mmol) dans du THF anhydre (50mL) et à -78°C est ajoutée une solution de *n*-butyllithium (1,6M dans l'hexane ; 16,8mL ; 27,6mmol) au goutte à goutte sous atmosphère d'argon. La solution est alors agitée pendant une heure et le chlorure de triméthylsilyle (3,55mL ; 27,9mmol) est ajouté au goutte à goutte à -78°C. Le mélange obtenu est alors agité pendant la nuit sous atmosphère inerte et à température ambiante avant d'être hydrolysé par ajout d'eau (100mL). Les phases sont ensuite séparées et la phase aqueuse est extraite trois fois avec de l'éther diéthylique (3 x 30mL). Les phases organiques sont ensuite réunies et sont lavées avec de l'eau, de l'eau saturée en sel, séchées sur MgSO₄, filtrées, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit brut obtenu est ensuite purifié par chromatographie sur colonne de silice en utilisant l'hexane comme éluant. Le produit est obtenu sous forme d'un liquide incolore (5,1g) avec un rendement de 87%,

CCM : Rapport frontal = 0,70 dans l'hexane à 100%.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,27 (s, 9H, **H_c**), 7,39 (d, J = 12,4Hz, 2H, **H_a**), 7,49 (d, J = 12,4Hz, 2H, **H_b**).

RMN ¹³C (75,5 MHz, CDCl₃) : δ -1,07, 123,4, 131,0, 135,0, 139,35.

4-Triméthylsilylbenzaldéhyde **5a**¹⁷⁸



A une solution de 4-bromotriméthylsilylbenzène **4a** (3,5g ; 15,2mmol) dans du THF anhydre (90mL) et à -78°C est ajoutée une solution de *n*-butyllithium (1,6M dans l'hexane ;

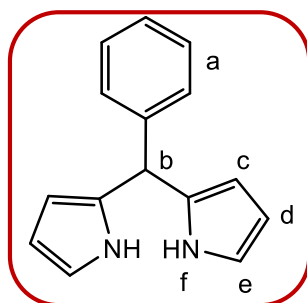
10mL ; 16,0 mmol) au goutte à goutte sous atmosphère d'argon. La solution limpide obtenue est alors agitée pendant 25 min et du DMF (1,88mL ; 24,3mmol) est ajouté en une fois. Le mélange est à nouveau agité pendant 35min à -78°C sous atmosphère d'argon avant l'ajout en une fois d'une solution de HCl à 1N (100mL) et l'extraction du mélange avec du Et₂O (2 x 70mL). Les phases organiques sont ensuite réunies et sont lavées successivement avec du NaHCO₃, de l'eau, de l'eau saturée en sel, séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est évaporé sous pression réduite. Un liquide incolore est alors obtenu (2,34g) avec un rendement de 86%. Le produit obtenu est pur et aucun traitement supplémentaire n'est nécessaire.

CCM : Rapport frontal = 0,54 dans un mélange hexane/Et₂O (8/1).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,31 (s, 9H, **H_c**), 7,69 (d, J = 14,7Hz, 2H, **H_b**), 7,83 (d, J = 14,6Hz, 2H, **H_a**), 10,02 (s, 1H, **H_d**).

RMN ¹³C (75,5 MHz, CDCl₃) : δ -1,3, 128,7, 133,9, 135,6, 149,2, 192,7.

5-Phényldipyrrométhane **6**¹⁷⁹

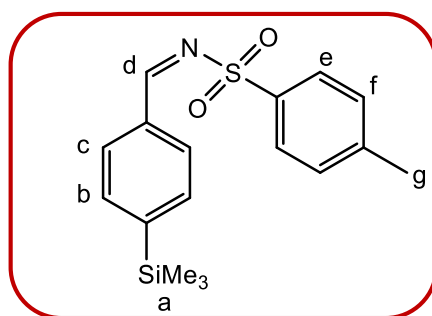


Dans un ballon de 250 mL sont ajoutés du pyrrole (62mL ; 0,93mol) et du benzaldéhyde (1mL ; 9,3mmol) et la solution obtenue est purgée avec un flux d'argon pendant 15 min. Le TFA (72μL ; 0,93mmol) est ajouté en une fois à l'aide d'une seringue et le mélange est agité pendant 45 min sous atmosphère d'argon avant ajout de TEA (200μL) pour neutraliser le TFA résiduel. Le pyrrole est alors évaporé sous pression réduite et l'huile noire obtenue est reprise à l'hexane 3 fois afin d'enlever le pyrrole résiduel. Le produit brut est ensuite élué avec un mélange éther de pétrole / DCM (1/1) à travers une courte colonne de silice ce qui permet de séparer les polymères de pyrrole formés au cours de la réaction. Un solide jaune est alors obtenu et après 3 reprises à l'hexane, il est recristallisé en dissolvant le produit à chaud dans 11 mL d'un mélange eau/éthanol (1/4) et en filtrant la solution obtenue à travers du coton. Cette solution a ensuite été laissée au réfrigérateur pendant la nuit. Les cristaux obtenus le lendemain ont été filtrés, séchés, et le produit a été obtenu avec un rendement de 68% (1,40g).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 5,49 (s, 1H, **H_b**), 5,92 (dddd, J = 3,4, 2,5, 1,6, 0,9 Hz, 2H, **H_c**), 6,16 (dt, J = 3,4, 2,7, 2H, **H_d**), 6,70 (td, J = 2,7, 1,6, 2H, **H_e**), 7,22-7,35 (m, 5H, **H_a**), 7,93 (s, 2H, **H_f**).

RMN ¹³C (75,5 MHz, CDCl₃) : δ 44,1, 107,3, 108,5, 117,3, 127,1, 128,5, 128,7, 132,6, 142,2.

4-Triméthylsilylbenzène-*N*-tosylimine **8a**

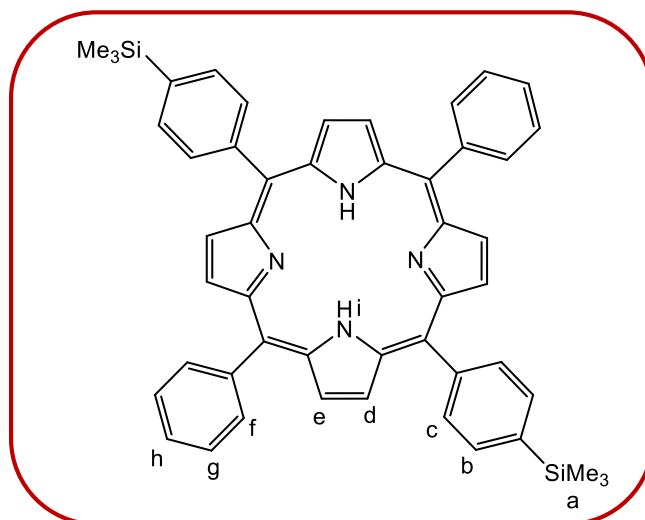


A une solution de 4-triméthylsilylbenzaldéhyde **5a** (500mg ; 2,8mmol) et de *p*-toluènesulfonamide (575mg ; 3,4 mmol) dans du dichlorométhane anhydre (15mL) est ajouté l'anhydride trifluoroacétique (0,651mL ; 4,2mmol) et le tout est chauffé à reflux pendant 22 h. La réaction est stoppée par ajout d'eau froide et la phase aqueuse est extraite avec du dichlorométhane (3 x 20mL), Les phases organiques sont ensuite combinées, séchées sur MgSO₄, filtrées, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit brut obtenu est alors purifié par chromatographie sur colonne de silice en utilisant un mélange hexane/éther diéthylique (8/1) comme éluant et en réalisant un dépôt solide. Le produit final est alors obtenu sous la forme d'un solide blanc (250mg) avec un rendement de 25%.

CCM : Rapport frontal = 0,18 dans un mélange hexane/Et₂O (8/1).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,28 (s, 9H, **H_a**), 2,43 (s, 3H, **H_g**), 7,34 (m, H, **H_f**), 7,63 (m, 2H, **H_b**), 7,86 (m, 2H, **H_c**), 7,89 (m, 2H, **H_e**), 9,02 (s, 1H, **H_d**).

5,15-Di-(4-triméthylsilyl)-10,20-diphényle porphyrine **7a**



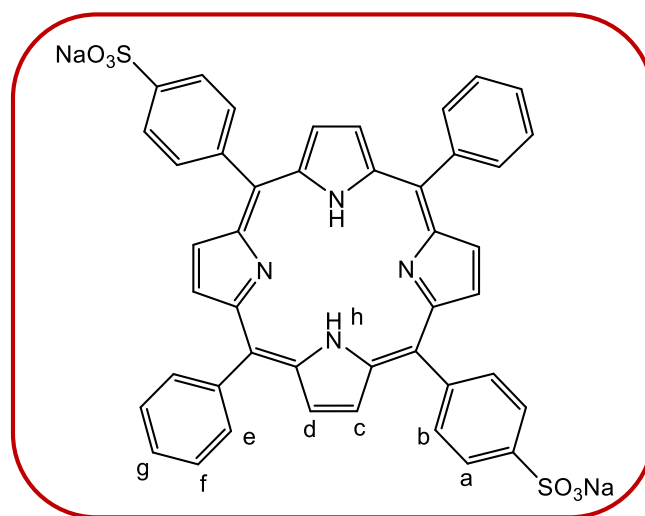
Dans un ballon de 250 mL sont ajoutés successivement la 4-triméthylsilylbenzène-*N*-tosylimine **8a** (231mg ; 0,69mmol), le dichlorométhane anhydre (34mL) et le Cu(OTf)₂ (24,9mg ; 0,069mmol). Le tout est agité pendant 30 min à température ambiante et sous atmosphère d'argon. Une solution de 5-phényldipyrrométhane **6** (153mg ; 0,90mmol) dans le

dichlorométhane anhydre (34mL) est ensuite ajoutée goutte à goutte au mélange précédent qui a préalablement été protégé de la lumière avec de l'aluminium et le tout est agité pendant 1h30. Le DDQ (236mg ; 1,04mmol) est ensuite ajouté en une fois et le tout est agité pendant 2h. De l'eau (20mL) est ensuite ajoutée et la phase aqueuse est extraite avec du dichlorométhane (3 x 15mL). Les phases organiques sont combinées, séchées sur MgSO₄, filtrées, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Un solide noir est alors obtenu et celui-ci est élué avec du dichlorométhane à travers une petite colonne d'alumine (activée, neutre). Les fractions violettes obtenues sont ensuite combinées et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit brut est ensuite purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant un éluant hexane/dichlorométhane (1/1). La fraction correspondant à la deuxième bande violette est collectée et correspond au produit recherché. Le composé est alors obtenu sous la forme d'un solide violet (34mg) avec un rendement de 6,1%.

CCM : Rapport frontal = 0,48 dans un mélange hexane/CH₂Cl₂ (1/1).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ -2,67 (s, 2H, H_i), 0,52 (s, 18H, H_a), 7,82 (m, 6H, H_g & H_h), 7,89 (d, J = 7,8Hz, 4H, H_b), 8,22 (m, 8H, H_c & H_f), 8,84 (s, 8H, H_d & H_e).

5,15-Di-(4-sulfonatophényle)-10,20-diphényle porphyrine **9a**



Dans un ballon de 50 mL sont ajoutés successivement la 5,15-di-(4-triméthylsilyle)-10,20-diphényle porphyrine **7a** (34mg ; 0,049mmol), le CCl₄ (13mL) et le triméthylsilylchlorosulfonate (42μL ; 0,268mmol). Le mélange est chauffé à reflux pendant 5h sous atmosphère d'argon. La réaction est suivie par RMN ¹H afin d'observer la disparition du pic correspond au groupement triméthylsilyle. Après arrêt du reflux, une solution de NaOH à 1M est ajoutée (10mL) afin d'hydrolyser l'intermédiaire formé et le tout est agité pendant 30 min. La solution est ensuite séparée en deux phases et la phase aqueuse est lavée trois fois avec du CHCl₃ (3x20mL) en prenant soin de casser les émulsions formées. L'eau est ensuite évaporée sous pression réduite jusqu'à atteindre environ 10 mL de solution et le produit est purifié par membrane de dialyse pendant quatre jours en changeant l'eau du béccher tous les jours. L'eau est alors évaporée sous pression réduite et le solide obtenu est lavé avec de

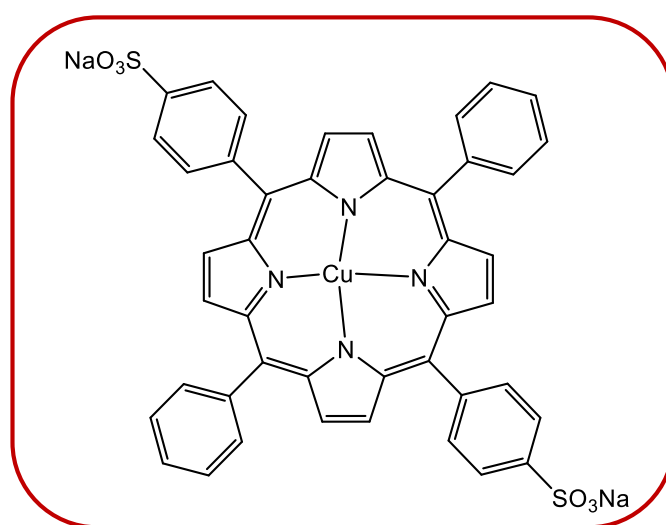
l'acétone et séché pendant plusieurs jours à 80°C dans une étuve. La porphyrine **9a** est alors obtenue sous la forme d'un solide violet (32mg) avec un rendement de 81%.

UV-Vis (MeOH) λ_{\max} (nm) ($\epsilon \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 412 (279), 516 (21), 552 (17), 580 (16), 632 (13).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ -2,92 (s, 2H, H_h), 7,79 (m, 6H, H_f & H_g), 8,00 (d, $J = 7,9 \text{ Hz}$, 4H, H_a), 8,16 (m, 8H, H_b & H_e), 8,79 (s, 8H, H_c & H_d).

ESI-MS (MeOH) : m/z trouvé = 819,1345 (calculé pour $\text{C}_{44}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_6\text{Na}_2\text{S}_2^+$, 819,1323).

Cu(II)-5,15-di-(4-sulfonatophényle)-10,20-diphényle porphyrine **1a**

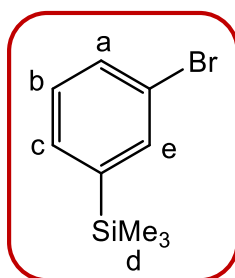


Dans un ballon de 25 mL sont ajoutés successivement la 5,15-di-(4-sulfonatophényle)-10,20-diphényle porphyrine **9a** (5mg ; 6,1 μmol), de l'eau (8mL) et l'acétate de cuivre (II) monohydraté (10mg ; 50 μmol). Le mélange obtenu est ensuite chauffé à reflux pendant 2h. Une mesure par spectroscopie UV-Visible d'un échantillon du milieu réactionnel permet de montrer que les bandes Q correspondant à la porphyrine **9a** ont disparu ce qui indique que la réaction de métallation est terminée. L'eau est ensuite évaporée sous pression réduite et le résidu obtenu est dilué dans l'eau ultra-pure avant d'être purifié par membrane de dialyse pendant quatre jours. Lors de la dialyse, le produit brut obtenu n'était pas complètement dissous dans l'eau. La porphyrine cuivrée **1a** est obtenue sous la forme d'un solide rouge (3,8mg) avec un rendement de 71%.

UV-Vis (MeOH) λ_{\max} (nm) ($\epsilon \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 412 (227), 540 (11).

MALDI-TOF (CHCA) : $m/z = 835,102$ (calculé pour $\text{C}_{44}\text{H}_{28}\text{CuN}_4\text{O}_6\text{S}_2^+$, 835,075).

3-Bromotriméthylsilylbenzène **4b**¹⁷⁸



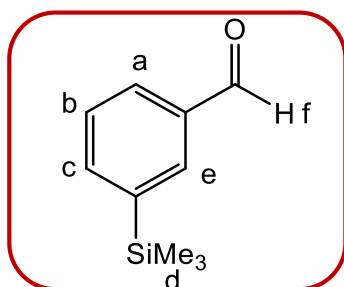
La procédure suivie est la même que celle utilisée pour synthétiser le composé **4a**, mais en utilisant le 1,3-dibromobenzène (6g ; 25,4mmol), le *n*-butyllithium (1,6M dans l'hexane ; 16,8mL ; 27,6mmol) et le chlorure de triméthylsilyle (3,55mL ; 27,9mmol). Rendement : 4,8g (83%).

CCM: Rapport frontal = 0,66 dans l'hexane à 100%.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,27 (s, 9H, **H_d**), 7,23 (ddd, J = 7,8, 7,3, 0,5 Hz, 1H, **H_b**), 7,42 (dt, J = 7,3, 1,1 Hz, 1H, **H_c**), 7,47 (ddd, J = 7,9, 2,1, 1,2 Hz, 1H, **H_a**), 7,62 (ddd, J = 2,2, 1,1, 0,5 Hz, 1H, **H_e**).

RMN ¹³C (75,5 MHz, CDCl₃) : δ -1,2, 122,9, 129,6, 131,6, 131,8, 135,9, 143,7.

3-Triméthylsilylbenzaldéhyde **5b**¹⁷⁸



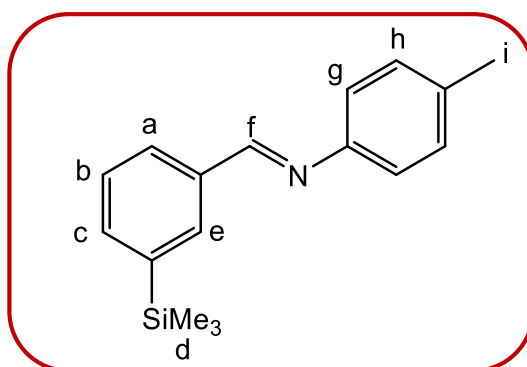
La procédure suivie est la même que celle utilisée pour synthétiser le composé **5a**, mais en utilisant le 3-bromotriméthylsilylbenzène **4b** (4,2g ; 18,2mmol), le *n*-butyllithium (1,6M dans l'hexane ; 12,0mL ; 19,2mmol) et le DMF (2,26mL ; 29,2mmol). Rendement : 2,66g (78%).

CCM : Rapport frontal = 0,51 dans un mélange hexane/Et₂O (8/1).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,31 (s, 9H, **H_d**), 7,23 (td, J = 7,5, 0,6Hz, 1H, **H_b**), 7,78 (dt, J = 7,3, 1,3Hz, 1H, **H_c**), 7,85 (ddd, J = 7,6, 1,8, 1,3Hz, 1H, **H_a**), 8,03 (ddd, J = 1,9, 1,3, 0,7Hz, 1H, **H_e**), 10,04 (s, 1H, **H_f**).

RMN ¹³C (75,5 MHz, CDCl₃) : δ -1,1, 128,4, 130,2, 134,7, 135,6, 139,4, 141,9, 192,9.

3-Triméthylsilylbenzène-*N*-tosylimine **8b**

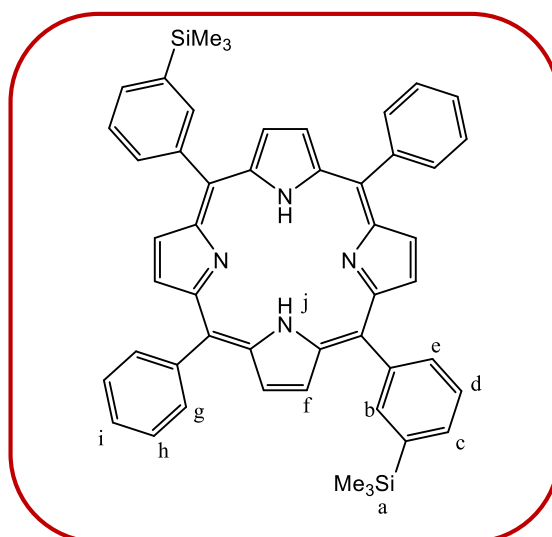


La procédure suivie est la même que celle utilisée pour synthétiser le composé **8a**, mais en utilisant le 3-triméthylsilylbenzaldéhyde **5b** (500mg ; 2,8mmol), le *p*-toluènesulfonamide (527mg ; 3,1mmol) et le TFAA (0,434mL ; 3,1mmol). Rendement : 299mg (32%).

CCM : Rapport frontal = 0,15 dans un mélange Hexane/Et₂O (8/1).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,28 (s, 9H, **H_d**), 2,44 (s, 3H, **H_i**), 7,35 (m, 2H, **H_g**), 7,46 (t, J = 7,5Hz, 1H, **H_b**), 7,75 (dt, J = 7,3, 1,3Hz, 1H, **H_c**), 7,90 (m, 3H, **H_h** + **H_a**), 8,03 (s, 1H, **H_e**), 9,04 (s, 1H, **H_f**).

5,15-Di-(3-triméthylsilyl)-10,20-diphényl porphyrine **7b**

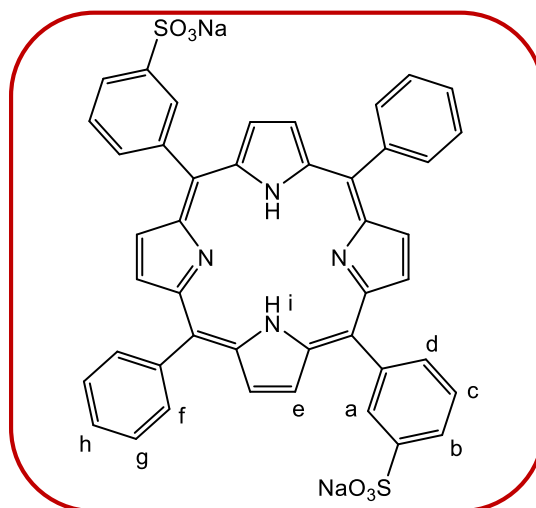


La procédure suivie est la même que celle utilisée pour synthétiser le composé **7a**, mais en utilisant la 3-triméthylsilylbenzène-*N*-tosylimine **8b** (285mg ; 0,86mmol), le Cu(OTf)₂ (31,1mg ; 0,086mmol), le 5-phényldipyrrométhane **6** (191mg ; 0,86mmol) et le DDQ (295mg ; 1,3mmol). La fraction correspondant à la deuxième bande violette est collectée par chromatographie sur gel de silice et correspond au produit recherché. Rendement : 57mg (8,1%).

CCM : Rapport frontal = 0,44 dans un mélange hexane/CH₂Cl₂ (1/1).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ -2,62 (s, 2H, **H_j**), 0,49 (s, 18H, **H_a**), 7,81 (m, 8H, **H_g** & **H_c** & **H_d**), 7,99 (d, J = 7,4Hz, 2H, **H_e**), 8,31 (m, 6H, **H_h** & **H_i**) 8,47 (s, 2H, **H_b**), 8,96 (s, 8H, **H_f**).

5,15-Di-(3-sulfonatophényle)-10,20-diphényle porphyrine 9b



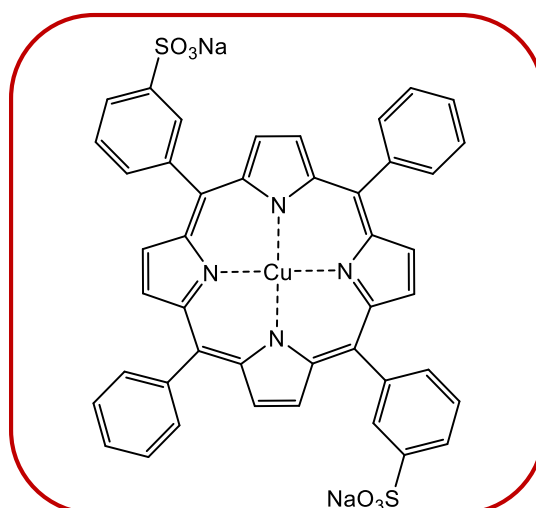
La procédure suivie est la même que celle utilisée pour synthétiser le composé **9a**, mais en utilisant la 5,15-di-(3-triméthylsilyle)-10,20-diphényle porphyrine **7b** (50mg ; 0,066mmol) et le triméthylsilylchlorosulfonate (60μL ; 0,394mmol). Rendement : 37mg (70%).

UV-Vis (MeOH) λ_{max} (nm) (ε (x 10³ M⁻¹cm⁻¹)): 412 (288), 516 (22), 552 (17), 580 (17), 632 (14).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ -2,91 (s, 2H, **H_i**), 7,79 (m, 8H, **H_b** & **H_c** & **H_f**), 8,05 (d, J = 7,8Hz, 2H, **H_d**), 8,18 (m, 6H, **H_g** & **H_h**), 8,35 (s, 2H, **H_a**), 8,81 (s, 8H, **H_e**).

ESI-MS (MeOH): m/z trouvé = 819,1315 (calculé pour C₄₄H₂₉N₄O₆Na₂S₂⁺, 819,1318).

Cu(II)-5,15-di-(3-sulfonatophényle)-10,20-diphényle porphyrine **1b**

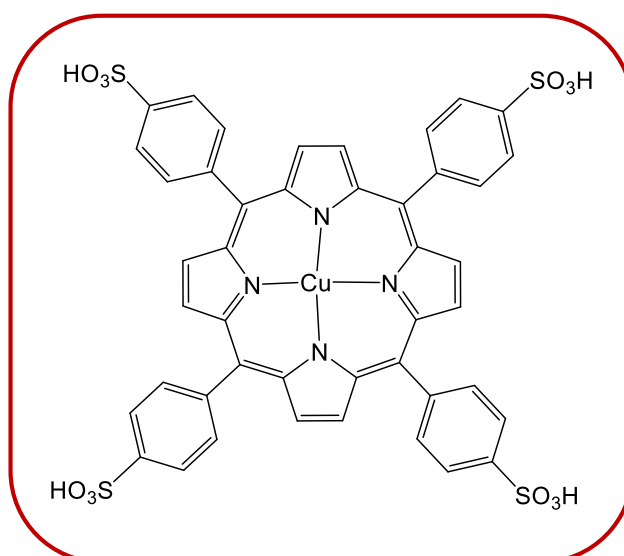


La procédure suivie est la même que celle utilisée pour synthétiser le composé **1a**, mais en utilisant la 5,15-di-(3-sulfonatophényle)-10,20-diphényle porphyrine **9b** (5mg ; 6,1 μ mol) et l'acétate de cuivre (II) monohydraté (10mg ; 50 μ mol). Rendement : 4,0mg (74%).

UV-Vis : λ_{max} /nm (MeOH) : 412 (235), 540 (8).

MALDI-TOF (CHCA) : m/z = 835,052 (calculé pour $\text{C}_{44}\text{H}_{28}\text{CuN}_4\text{O}_6\text{S}_2^+$, 835,075).

Cu(II)-*méso*-tétrakis-(4-sulfophényle) porphyrine **2a**

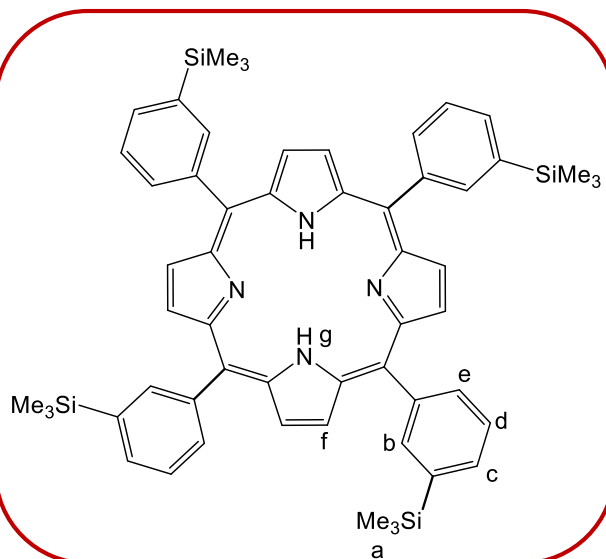


La procédure suivie est la même que celle utilisée pour synthétiser le composé **1a**, mais en utilisant la *méso*-tétrakis(4-sulfophényle) porphyrine **10a** (5mg ; 5,3 μ mol) et l'acétate de cuivre (II) monohydraté (10mg ; 50 μ mol). Rendement : 4,5mg (86%).

UV-Vis (H₂O) λ_{max} (nm) (ϵ (x 10³ M⁻¹cm⁻¹)): 412 (233), 540 (10).

MALDI-TOF (CHCA) : m/z trouvé = 995,021 (calculé pour C₄₄H₂₈CuN₄O₁₂S₄⁺, 994,988).

méso-Tétrakis(3-triméthylsilylbenzène) porphyrine **11b**¹⁷⁸

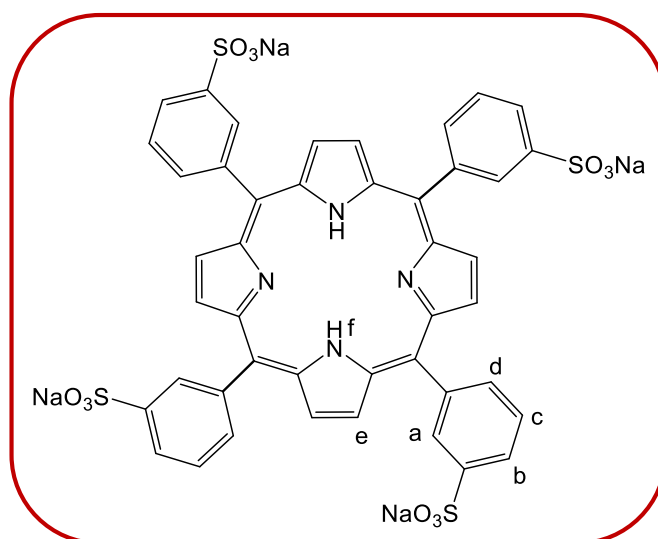


Dans un ballon de 250 mL sont ajoutés successivement le 3-triméthylsilylbenzaldéhyde **5b** (200mg ; 1,12mmol), le dichlorométhane anhydre (120mL) et le pyrrole (78 μ L ; 1,12mmol). La solution est purgée avec de l'argon pendant 20 min et l'éthérate de trifluorure de bore (30 μ L ; 0,112mmol) est ajouté en une fois. Le mélange est agité pendant 1h à température ambiante et sous atmosphère d'argon. Une solution de DDQ (254mg ; 1,12mmol) dans le toluène (15mL) est ensuite ajoutée en une fois et le milieu réactionnel est agité pendant 1h supplémentaire. Après évaporation du solvant sous pression réduite, un solide noir est obtenu et celui-ci est élué avec du dichlorométhane à travers une petite colonne d'alumine (activée, neutre). Les fractions violettes obtenues sont ensuite combinées et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit brut est ensuite purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant un éluant hexane/chloroforme (1/1). La fraction correspondant à la deuxième bande violette est collectée et correspond au produit recherché. Le composé est alors obtenu sous la forme d'un solide violet (218mg) avec un rendement de 22%.

CCM : Rapport frontal = 0,52 dans un mélange hexane/chloroforme (1/1).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ -2,67 (s, 2H, **H_g**), 0,44 (s, 36H, **H_a**), 7,77 (t, J = 7,4 Hz, 4H, **H_d**), 7,95 (d, J = 7,4Hz, 4H, **H_c**), 8,24 (s, 4H, **H_b**), 8,42 (d, J = 7,2 Hz, **H_e**), 8,90 (s, 8H, **H_f**).

méso-Tétrakis(3-sulfonatophényle) porphyrine **10b**¹⁷⁸



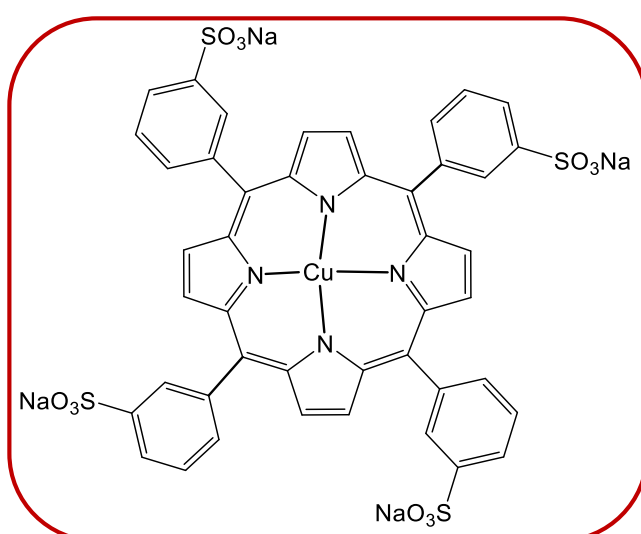
La procédure suivie est la même que celle utilisée pour synthétiser le composé **9a**, mais en utilisant la *méso*-tétrakis(3-triméthylsilylbenzène) porphyrine **11b** (30mg ; 0,033mmol) et le triméthylsilylchlorosulfonate (62μL ; 0,39mmol). Rendement : 26mg (76%).

UV-Vis (H₂O) λ_{max} (nm) (ε (x 10³ M⁻¹cm⁻¹)): 412 (296), 516 (24), 552 (18), 580 (17), 632 (14).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d⁶): δ -2,89 (s, 2H, **H_f**), 7,81 (t, J = 7,7 Hz, 4H, **H_c**), 8,08 (d, J = 7,9 Hz, 4H, **H_b**), 8,21 (s, 4H, **H_a**), 8,40 (d, J = 7,4Hz, 4H, **H_d**), 8,84 (s, 8H, **H_e**).

ESI-MS (H₂O): m/z trouvé = 935,0514 (calculé pour C₄₄H₃₁N₄O₁₂S₄⁺, 935,0821).

Cu(II)-*méso*-tétrakis(3-sulfonatophényle) porphyrine **2b**

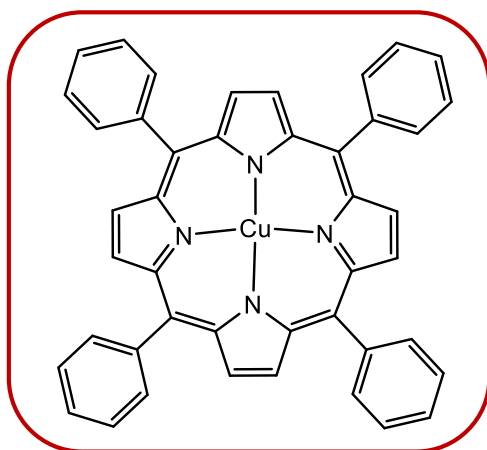


La procédure suivie est la même que celle utilisée pour synthétiser le composé **1a**, mais en utilisant la *méso*-tétrakis(3-sulfonatophényle) porphyrine **10b** (5mg ; 4,9 μ mol) et l'acétate de cuivre (II) monohydraté (10mg ; 50 μ mol). Rendement : 4,0mg (76%).

UV-Vis (H₂O) λ_{max} (nm) (ϵ (x 10³ M⁻¹cm⁻¹)) : 412 (243), 540 (9).

MALDI-TOF (CHCA) : m/z = 994,975 (calculé pour C₄₄H₂₈CuN₄O₁₂S₄⁺, 994,988).

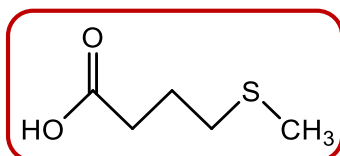
Cu(II)-tétraphénylporphyrine **13a**¹⁹¹



Une solution d'acétate de cuivre (II) monohydraté (72mg ; 0,36mmol) dans le méthanol (10mL) est ajoutée à une solution de tétraphénylporphyrine **12a** (200mg ; 0,33mmol) dans le chloroforme (40mL). Le mélange est porté à reflux et après 30min, l'analyse du milieu réactionnel par CCM montre que l'intégralité de la tétraphénylporphyrine est consommée. Le produit final est ensuite obtenu par précipitation dans le méthanol lors du refroidissement de la solution. La porphyrine cuivrée **13a** est obtenue sous la forme d'un solide violet (199mg) avec un rendement de 90%.

UV-Vis (CH₂Cl₂) λ_{max} (nm): 416, 540, 620.

Acide 4-méthylthiobutanoïque¹¹⁷

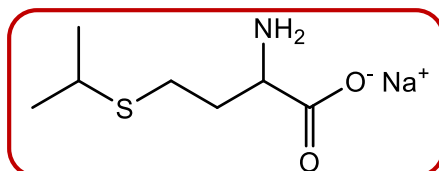


Le méthanesulfonate de sodium (1g ; 14,26mmol) et la γ -butyrolactone (0,920g ; 10,70 mmol) sont ajoutés à 20 mL de DMSO anhydre et le mélange obtenu est agité sous argon pendant 5 jours. Ensuite, 25mL d'acide chlorhydrique à 1M sont ajoutés puis le mélange est extrait avec 3 x 25mL d'éther diéthylique. La phase organique est ensuite lavée avec 5 x 20 mL d'eau et évaporée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par colonne sur gel de

silice en utilisant l'acétate d'éthyle comme éluant. Le produit final est obtenu sous la forme d'une huile jaune (0,9257g) avec un rendement de 55%.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d⁶): δ 1,74 (m, 2H), 2,03 (s, 3H), 2,31 (t, J = 2,3 Hz, 2H), 2,48 (t, J = 2,5 Hz, 2H), 12,08 (s, 1H).

D,L-isopropionine¹²⁷



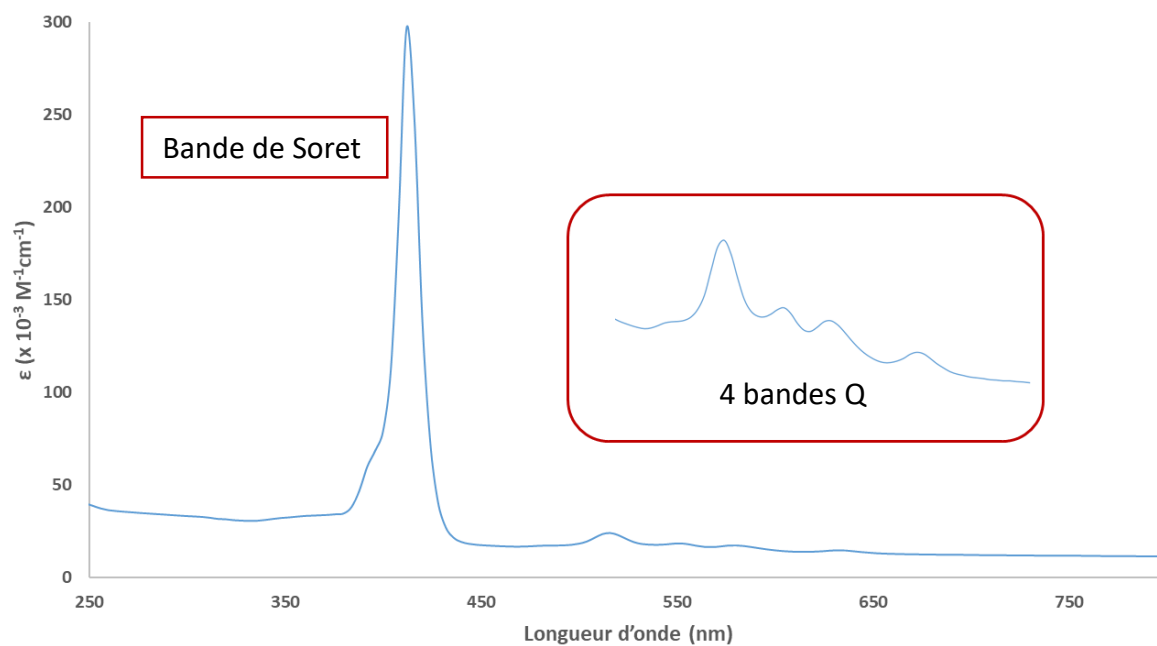
A du méthanol sec (18mL ; 0,35mol) est ajouté le Na solide (330mg ; 14,3mmol) et la réaction est mise sous atmosphère d'argon après avoir pris soin de laisser la chaleur due à la réaction entre le méthanol et le sodium se dégager. La HCTL (1g, 6,5mmol) est alors ajoutée au milieu réactionnel et le mélange est agité pendant 30 min à température ambiante. Le 2-iodopropane (1,21g ; 7,15mmol) est alors ajouté au milieu réactionnel et le tout est agité à température ambiante pendant la nuit. L'halogénure de sodium qui a précipité est alors filtré et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est alors traité avec une solution de NaOH à 4M (10mL) pendant 6h. Le mélange obtenu est neutralisé avec de l'acide chlorhydrique 4M et le précipité est récupéré par filtration. Le produit brut est ensuite transformé en sel de sodium correspondant en ajoutant une quantité stœchiométrique de NaOH 1M. Le produit final est obtenu après neutralisation de la solution avec de l'acide chlorhydrique 1M et chauffage de la solution à 60°C pendant 1h. Un solide blanc est obtenu (516mg) avec un rendement de 40%.

RMN ¹H (300 MHz, D₂O): δ 1,27 (d, J = 6,7Hz, 6H), 2,03-2,20 (m, 2H), 2,72 (t, J = 7,8Hz, 2H), 3,09 (m, 1H), 3,86 (t, J = 6,7Hz, 1H).

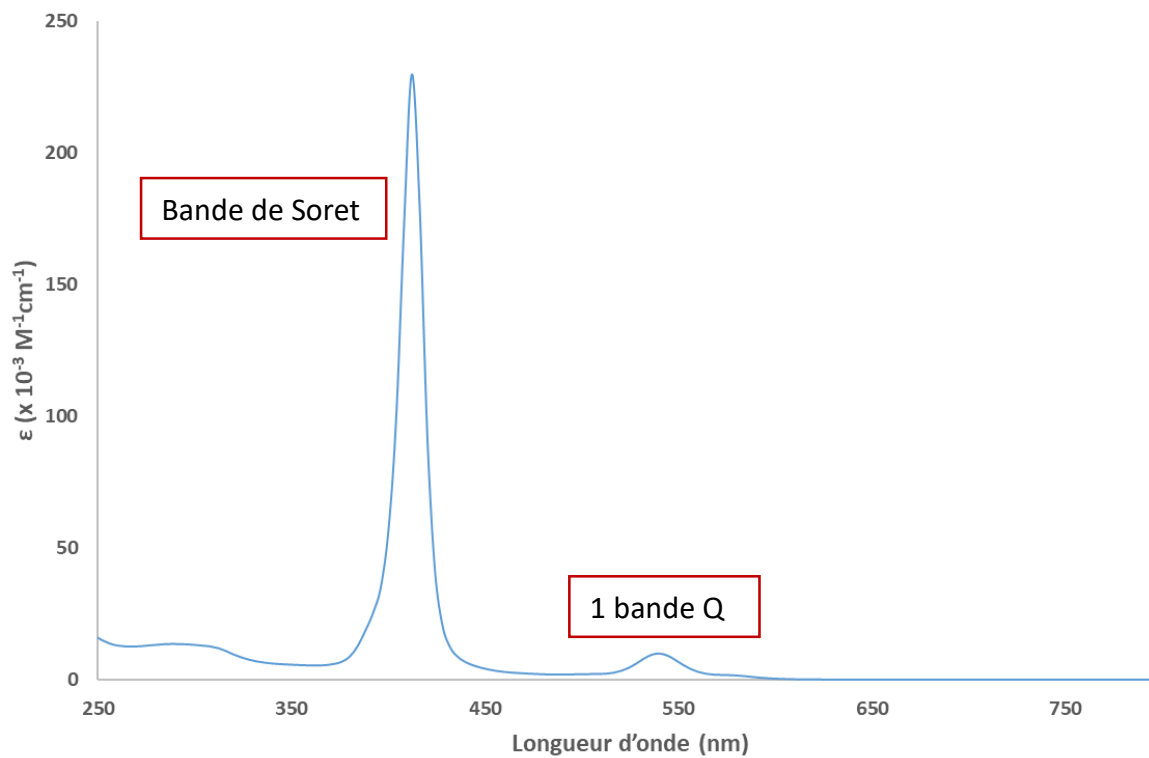
ESI-MS (H₂O) m/z trouvé = 200,0724 (calculé pour C₇H₁₅NO₂SN⁺, 200,0713).

Exemples de spectres caractéristiques des porphyrines obtenus par spectroscopie UV-Vis.

Spectre de la *méso*-tétrakis(3-sulfonatophényle) porphyrine **10b** dans H₂O



Spectre de la Cu(II)-*méso*-tétrakis(3-sulfonatophényle) porphyrine **2b** dans H₂O



Protocoles d'irradiation et d'analyse du chapitre 2

Protocole 2.1 : protocole général d'irradiation des solutions modèles avec le banc optique et protocole d'analyse des échantillons par SPME-GC-PFPD

Dans une cuve en quartz de 4 cm de trajet optique protégée par du papier aluminium est ajoutée la solution modèle contenant la riboflavine et le précurseur soufré (méthionine ou isopropionine ou un mélange des deux) (12mL). Le mélange est ensuite agité et purgé avec de l'argon pendant 20 min. Avant d'irradier l'échantillon, une mesure du flux énergétique est réalisée avec un puissance-mètre (valeurs comprises entre 1,3 et 1,5 mW à 435 nm). Le papier aluminium autour de la cuve est enlevé et l'échantillon est irradié à 435 nm avec le banc optique tout en agitant la solution en condition d'anaérobie. Après l'irradiation, la cuve est ouverte à l'air et 9 mL de la solution sont prélevés à la seringue et mis dans un pilulier opaque de 10 mL. Le DTA dilué dans l'éthanol et présent à une concentration finale de 10^{-6} M dans l'échantillon est ajouté (9 μ L) et le pilulier est scellé. L'échantillon obtenu est ensuite agité à 200 RPM pendant 15 min et la fibre SPME est directement insérée dans la solution pendant 15 min afin de réaliser l'extraction des composés. La fibre SPME est rétractée et placée dans l'injecteur de la GC-PFPD afin de désorber thermiquement les composés.

Protocole 2.2 : protocole général d'irradiation des solutions modèles avec les DEL et protocole d'analyse des échantillons par SPME-GC-PFPD

Dans une cuve en quartz de 4 cm de trajet optique protégée par du papier aluminium est ajoutée la solution modèle contenant la riboflavine et le précurseur soufré (méthionine ou isopropionine ou un mélange des deux) (12mL). Le mélange est ensuite agité et purgé avec de l'argon pendant 20 min. Avant d'irradier l'échantillon, une mesure du flux énergétique est réalisée avec un puissance-mètre (valeurs comprises entre 40 et 45 mW à 435 nm). Le papier aluminium autour de la cuve est enlevé et l'échantillon est irradié à 440 nm pendant 15 min avec le dispositif d'éclairage composé de DEL tout en agitant la solution en condition d'anaérobie. Après l'irradiation, la cuve est ouverte à l'air et 9 mL de la solution sont prélevés à la seringue et mis dans un pilulier opaque de 10 mL. Le DTA dilué dans l'éthanol et présent à une concentration finale de 10^{-6} M dans l'échantillon est ajouté (9 μ L) et le pilulier est scellé. L'échantillon obtenu est ensuite agité à 200 RPM pendant 15 min et la fibre SPME est

directement insérée dans la solution pendant 15 min afin de réaliser l'extraction des composés. La fibre SPME est rétractée et placée dans l'injecteur de la GC-PFPD afin de désorber thermiquement les composés.

Protocole 2.3 : courbes d'étalonnage du méthaneéthiol, du DMDS et du DMTS dans les solutions modèles

Dans un pilulier opaque de 10 mL préalablement purgé avec de l'argon sont ajoutés 9 mL d'une solution modèle (mélange eau/éthanol, 88/12, pH = 3,5). Une solution mère de méthaneéthiol dilué dans la solution modèle à une concentration de 10^{-2} M est ensuite ajoutée au pilulier (entre 4,5 μ L et 72 μ L) afin d'obtenir des concentrations finales dans les échantillons comprises entre 10^{-5} M et 8×10^{-5} M. Le DTA dilué dans l'éthanol et présent à une concentration finale de 10^{-6} M dans l'échantillon est ajouté (9 μ L) et le pilulier est scellé. L'échantillon est ensuite analysé par SPME-GC-PFPD. Le même protocole est utilisé pour le DMDS et le DMTS mais avec une concentration mère de 10^{-3} M afin d'obtenir des concentrations finales dans les échantillons comprises entre 10^{-6} M et 8×10^{-6} M (entre 4,5 μ L et 72 μ L ajoutés). Les analyses sont faites directement après avoir préparé les solutions mères et les échantillons. Pour chaque concentration, deux échantillons différents ont été analysés.

Protocole 2.4 : impact de l'oxygène sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles formées (partie 2.5.1)

Le protocole général 2.1 est suivi avec une solution modèle contenant la riboflavine à une concentration de 0,05 mM et la méthionine à une concentration de 0,1 mM. Pour la condition semi-anaérobie, le septum de la cuve est enlevé pendant l'irradiation et la cuve est donc en contact avec l'air. Pour la condition aérobie, le septum est présent sur la cuve pendant l'irradiation et la solution est en contact avec l'air seulement après ouverture de la cuve afin de réaliser l'analyse SPME-GC-PFPD.

Protocole 2.5 : impact de la concentration en méthionine sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles formées (partie 2.5.3)

Le protocole général 2.1 est suivi avec une solution modèle contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM et la méthionine à des concentrations comprises entre 0,02

mM et 5 mM.

Protocole 2.6 : détection de la glycine par GC-MS après irradiation d'une solution modèle

Dans une cuve en quartz de 4 cm de trajet optique protégée par du papier aluminium sont ajoutés 6 mL d'une solution de riboflavine à 0,25 mM préparée dans un mélange eau/éthanol (88/12) acidifié à pH = 3,5 avec de l'acide chlorhydrique et 6 mL d'une solution de méthionine à 10 mM préparée avec le même solvant. Le mélange est purgé pendant 20 min avec de l'argon. Une mesure de l'intensité lumineuse est réalisée à l'aide du puissance-mètre (2 mW) et la cuve est irradiée pendant 24h à 435 nm sous agitation en condition d'anaérobie. Le contenu de la cuve est ensuite transféré dans un ballon et le solvant est évaporé sous pression réduite. L'extrait jaune obtenu est séché avec une pompe à palettes. Le même protocole est utilisé pour l'échantillon témoin sauf que celui-ci n'est pas irradié. Avant l'analyse par GC-MS, les extraits sont silylés selon le protocole suivant : 100 µL d'un mélange composé de N,O-bis-(triméthylsilyle) trifluoroacétamide et de triméthylchlorosilane (BSTFA / TCMS ; 99 / 1) sont ajoutés à 100µL d'acétonitrile et la solution obtenue est ajoutée aux extraits. Les échantillons sont chauffés à 70°C pendant 30 min afin de réaliser la réaction de silylation. L'analyse par GC-MS est faite avec une GC Thermo Trace (colonne Optima-5MS 30m x 0,25mm x 0,25µm) couplée à un spectromètre de masse Thermo ISQ en mode scan complet.

Protocole 2.7 : courbe d'étalonnage du 2-propanethiol (partie 2.7.3.3)

Dans un pilulier opaque de 10 mL préalablement purgé avec de l'argon sont ajoutés 9 mL d'une solution modèle (mélange eau/éthanol, 88/12, pH = 3,5). Une solution mère de 2-propanethiol dilué dans la solution modèle à une concentration de 10^{-2} M est ensuite ajoutée au pilulier (entre 9 µL et 54 µL) afin d'obtenir des concentrations finales dans les échantillons comprises entre 10^{-5} M et 6×10^{-5} M. Le DTA dilué dans l'éthanol et présent à une concentration finale de 10^{-6} M dans l'échantillon est ajouté (9 µL) et le pilulier est scellé. L'échantillon est ensuite analysé par SPME-GC-PFPD. Les analyses sont faites directement après avoir préparé les solutions mères et les échantillons.

Protocole 2.8 : irradiation de l'isopropionine avec des DEL (partie 2.7.3.3)

Le protocole général 2.2 est suivi avec une solution modèle contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM et l'isopropionine à une concentration de 0,1 mM. Les structures des molécules correspondant aux pics chromatographiques sont déterminées par GC-MS (GC Thermo trace, colonne Optima-5MS 30m x 0,25mm x 0,25µm, couplée à un spectromètre de masse Thermo ISQ en mode scan total et appel d'ions sur la base des composés répertoriés dans la base de données).

[Protocole 2.9 : irradiation d'une solution contenant l'isopropionine et la méthionine avec un ratio 25/1 en présence de riboflavine avec des DEL \(partie 2.7.3.4\)](#)

Le protocole général 2.2 est suivi avec une solution modèle contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM, la méthionine à une concentration de 0,1 mM et l'isopropionine à une concentration de 2,5 mM. Les structures des molécules correspondant aux pics chromatographiques sont déterminées par GC-MS (GC Thermo trace, colonne Optima-5MS 30m x 0,25mm x 0,25µm, couplée à un spectromètre de masse Thermo ISQ en mode scan total et appel d'ions sur la base des composés répertoriés dans la base de données).

[Protocole 2.10 : impact de la concentration en isopropionine sur les rendements quantiques du 2-propanethiol formé \(partie 2.7.3.4\)](#)

Le protocole général 2.1 est suivi avec une solution modèle contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM et l'isopropionine à des concentrations comprises entre 0,1 mM et 2 mM.

[Protocole 2.11 : irradiations de solutions contenant l'isopropionine et la méthionine avec des ratios allant de 1 à 4 avec le banc optique \(partie 2.7.3.4\)](#)

Le protocole général 2.1 est suivi avec une solution modèle contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM, la méthionine (0,1 mM ou 0,4 mM) et l'isopropionine à 0,4 mM.

[Protocole 2.12 : protocole général d'irradiation des solutions modèles avec le banc optique et protocole d'analyse des échantillons par SPME-GC-MS](#)

Dans une cuve en quartz de 4 cm de trajet optique protégée par du papier aluminium est ajoutée la solution modèle contenant la riboflavine le précurseur soufré (méthionine ou MBA ou MP). Le mélange est ensuite agité et purgé avec de l'argon pendant 20 min. Avant d'irradier l'échantillon, le nombre de photons absorbés par l'échantillon est mesuré avec l'actinomètre de Parker à une concentration de 6 mM dans l'acide sulfurique à 0,05 M ($\phi = 1,11$). Le papier aluminium autour de la cuve est enlevé et l'échantillon est irradié à 435 nm avec le banc optique tout en agitant la solution (condition anaérobie). Après l'irradiation, la cuve est ouverte à l'oxygène et 9 mL de la solution sont prélevés et mis dans un pilulier opaque de 10 mL. Le DTA dilué dans l'éthanol et présent à une concentration finale de $9,15 \times 10^{-5}$ M dans l'échantillon est ajouté (10 μ L) et le pilulier est scellé. L'échantillon est ensuite mis dans un frigo et est analysé entre 3 et 5 jours après. L'échantillon obtenu est ensuite placé dans l'injecteur automatique Triplus de Thermo et la fibre SPME est insérée dans la solution pendant 15 min afin de réaliser l'extraction des composés. La fibre SPME est automatiquement rétractée et placée dans l'injecteur de la GC-MS afin de désorber thermiquement les composés.

Protocole 2.13 : impact du pH de la solution sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles formées (partie 2.5.2)

Le protocole général 2.12 est suivi avec une solution modèle contenant la riboflavine à une concentration de 0,05 mM et la méthionine à une concentration de 0,1 mM. Le pH de chaque solution (pH = 1,5 ; 2 ; 2,5 ; 3 ; 3,5 ; 4 ; 4,5 ; 5 ; 7 ; et 9) est ajusté avec des solutions de NaOH 1M et d'HCl 1M. L'analyse des échantillons est réalisée entre 2 et 4 jours après.

Protocole 2.14 : irradiations avec des analogues de la méthionine (MP et MBA)

Le protocole général 2.12 est suivi avec une solution modèle contenant la riboflavine à une concentration de 0,05 mM et l'un des précurseurs soufré à une concentration de 0,1 mM (méthionine, MBA, ou MP) L'analyse des échantillons est réalisée entre 2 et 4 jours après l'irradiation.

Solutions utilisées pour l'actinométrie

Préparation de la solution de ferrioxalate à 6 mM

0,29 g de ferrioxalate de potassium sont dissous dans 100 mL d' H_2SO_4 à 0,05 M.

Préparation de la solution de 1,10-phénanthroline à 5,5 mM

22,5 g d'acétate de sodium trihydraté et 0,1 g de 1,10-phénanthroline sont dissous dans 100 mL d' H_2SO_4 à 0,5 M.

Paramètres d'analyse des solutions modèles du chapitre 2 par SPME-GC-PFPD

Injection manuelle en immersion directe

Paramètres SPME :

Hauteur de jauge pendant extraction : 1,6 cm

Temps d'extraction : 15 min

Hauteur de jauge pendant désorption : 3 cm

Temps de désorption : 7 min

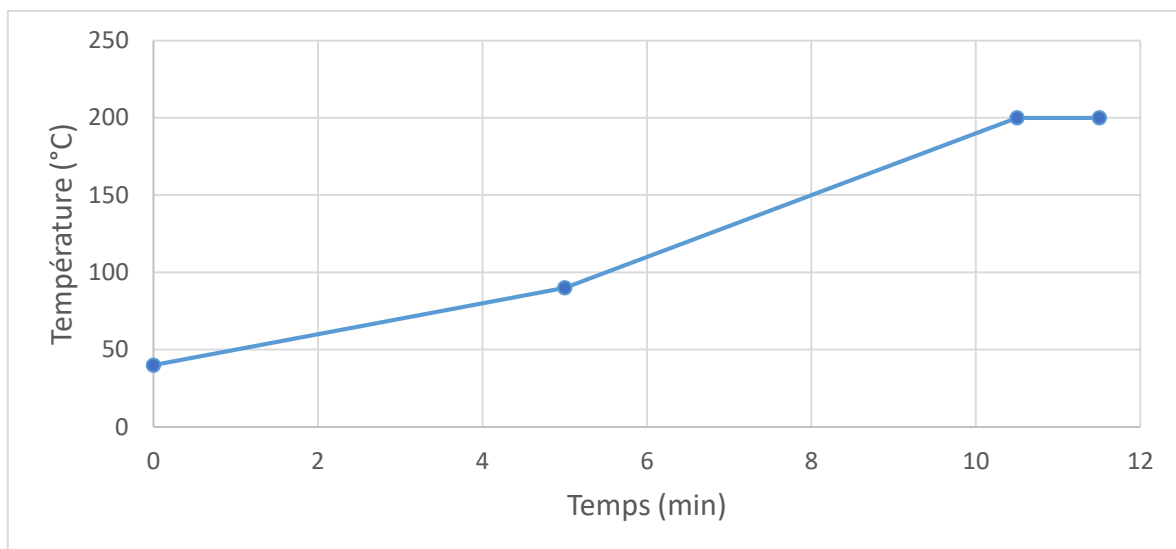
Colonne : DB-WAX 30m x 0,25mm x 0,25 μ m

Température de l'injecteur : 250°C

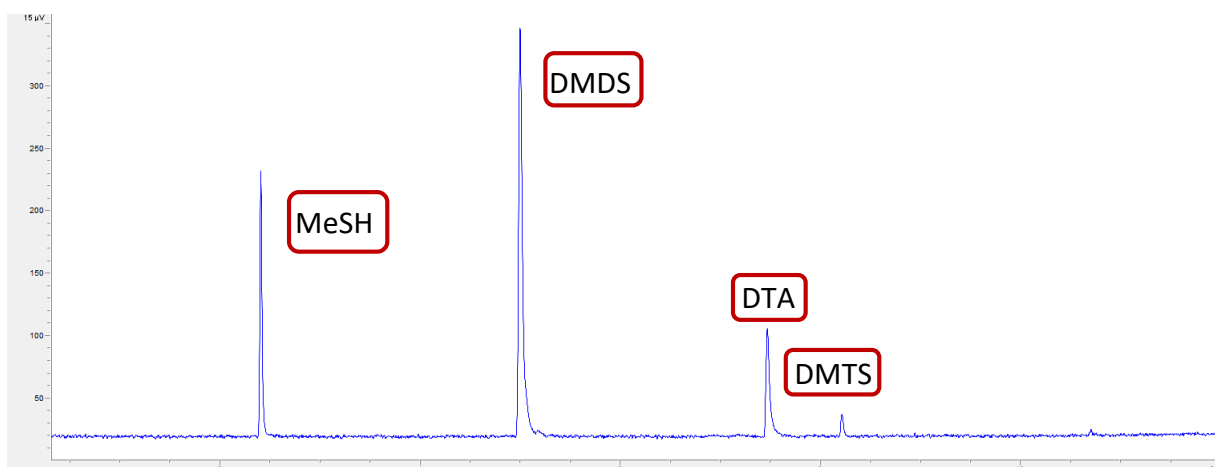
Mode : split 200/1

Température du détecteur : 300°C

Programme du four de la GC :



Exemple d'un chromatogramme obtenu par analyse SPME-GC-PFPD



Paramètres d'analyse des solutions modèles du chapitre 2 par SPME-GC-MS

Injection avec un passeur automatique en immersion directe

Paramètres SPME :

Temps d'extraction : 15 min

Temps de désorption : 3 min

Temps de conditionnement : 25 min

Colonne : PIMA-WAX plus 30m x 0,25mm x 0,25 μ m

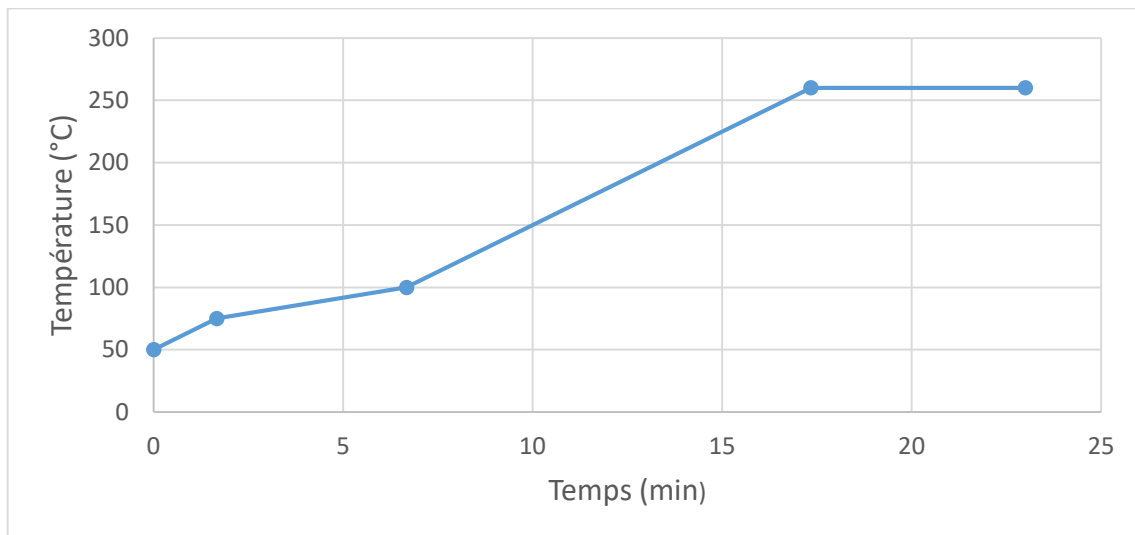
Temps d'extraction : 15 min

Temps de désorption : 7 min

Température de l'injecteur : 250°C

Mode : split

Programme du four de la GC :

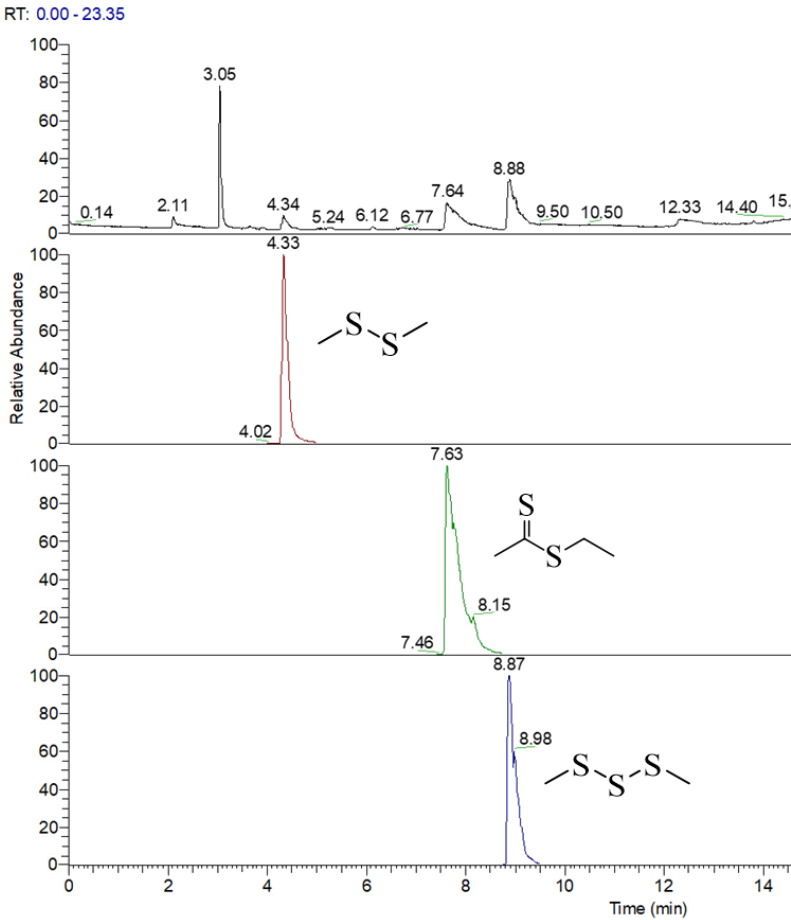


Spectromètre de masse

Programme de suivi d'ions sélectionnés



Exemple d'un chromatogramme obtenu par SPME-GC-MS



Protocoles d'irradiation et d'analyse du chapitre 3

Protocole 3.1 : protocole général d'irradiation des solutions modèles avec le banc optique et protocole d'analyse des échantillons par SPME-GC-PFPD

Dans une cuve en quartz de 4 cm de trajet optique protégée par du papier aluminium est ajoutée la solution modèle contenant la riboflavine et la méthionine (12mL). Le mélange est ensuite agité et purgé avec de l'argon pendant 20 min. Avant d'irradier l'échantillon, une mesure du flux énergétique est réalisée avec un puissance-mètre (valeurs comprises entre 1,3 et 1,5 mW à 435 nm). Le papier aluminium autour de la cuve est enlevé et l'échantillon est irradié à 435 nm avec le banc optique tout en agitant la solution. Après l'irradiation, la cuve est ouverte à l'air et 9 mL de la solution sont prélevés et mis dans un pilulier opaque de 10 mL. Le DTA dilué dans l'éthanol et présent à une concentration finale de 10^{-6} M dans l'échantillon est ajouté (9 μ L) et le pilulier est scellé. L'échantillon obtenu est ensuite agité à 200 RPM pendant 15 min et la fibre SPME est directement insérée dans la solution pendant 15 min afin de réaliser l'extraction des composés. La fibre SPME est rétractée et placée dans l'injecteur de la GC-PFPD afin de désorber thermiquement les composés.

Protocole 3.2 : influence de la longueur d'onde d'irradiation sur les rendements quantiques des espèces soufrées volatiles

Le protocole général 3.1 est suivi avec une solution modèle contenant la riboflavine à une concentration de 0,05 mM et la méthionine à une concentration de 0,1 mM mais en faisant varier la longueur d'onde d'irradiation entre 300 et 500 nm ($\lambda = 365, 405, 435, 470$ et 490 nm). Le flux incident est mesuré à chaque longueur d'onde. Les irradiations sont réalisées en conditions semi-aérobies (le septum de la cuve est enlevé et la solution est donc en contact avec l'air pendant l'irradiation).

Protocole 3.3 : suivi cinétique du rendement de formation des espèces soufrées volatiles en absence totale d'oxygène

Le protocole général 3.1 est suivi avec une solution modèle contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM et la méthionine à une concentration de 0,1 mM. La solution est purgée pendant 45 min au lieu de 20 min et l'irradiation est réalisée en conditions

anaérobies en gardant la cuve sous atmosphère inerte avec un ballon rempli d'argon. Après l'irradiation, la cuve n'est pas ouverte à l'air mais gardée sous atmosphère d'argon et des analyses sont réalisées à $t = 0$ et $t = 16\text{h}$. La cuve est ensuite ouverte et des analyses supplémentaires sont réalisées à $t = 17\text{h}$, $t = 18\text{h}$ et $t = 36\text{h}$.

Protocole 3.4 : suivi cinétique du rendement de formation des espèces soufrées volatiles en condition aérobie

Le protocole général 3.1 est suivi avec une solution modèle contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM et la méthionine à une concentration de 0,1 mM. L'irradiation est réalisée en condition aérobie et la solution n'est donc pas purgée avec de l'argon. Entre chaque analyse, la solution contenue dans le pilulier est transférée dans la cuve et la solution est irradiée.

Protocole 3.5 : suivi cinétique du rendement de formation des espèces soufrées volatiles en condition anaérobie

Le protocole général 3.1 est suivi avec une solution modèle contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM et la méthionine à une concentration de 0,1 mM. Une nouvelle solution est utilisée pour chaque temps d'irradiation.

Protocole 3.6 : impact de de l'ajout de sulfites dans les solutions modèles en présence de 3 g/L de sucres en condition anaérobie

Le protocole général 3.1 est suivi avec une solution modèle contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM, la méthionine à une concentration de 0,1 mM et le saccharose à une concentration de 3 g/L. Des sulfites (mélange de NaHSO_3 et de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, CAS 7631-90-5) sont ajoutés à la solution à des concentrations comprises entre 0 et 60 mg/L.

Protocole 3.7 : impact de l'ajout de sucres dans les solutions modèles en présence de 10 mg /L de sulfites en condition anaérobie

Le protocole général 3.1 est suivi avec une solution modèle contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM, la méthionine à une concentration de 0,1 mM et des sulfites à une concentration de 10 mg/L. Des sucres (saccharoses) sont ajoutés à la solution à des concentrations comprises entre 0 et 40 g/L.

Protocole 3.8 : influence du pH de la solution sur les rendements quantiques des espèces sulfurées volatiles en présence de 10 mg/L de sulfites en condition anaérobie

Le protocole général 3.1 est suivi avec une solution modèle contenant la riboflavine à une concentration de 0,25 mM, la méthionine à une concentration de 0,1 mM et des sulfites à une concentration de 10 mg/L. Le pH de la solution est ajusté à des valeurs comprises entre 3 et 4 avec de la soude à 1M et de l'acide chlorhydrique à 1M.

Protocole 3.9 : dégazage des cuves par gel-dégel et irradiations avec le banc optique

Dans une cuve de 1cm de trajet optique sont ajoutés 1,5 mL d'une solution modèle de riboflavine à 0,1 mM et 1,5 mL d'une solution modèle de méthionine à 0,2 mM. L'échantillon est ensuite dégazé par quatre cycles de gel-dégel et la cuve est scellée. La cuve est ensuite irradiée avec le banc optique afin d'atteindre une valeur d'absorbance minimale (30 minutes). A la fin de l'irradiation, la cuve est placée à l'abri de la lumière et des mesures d'absorbance par spectroscopie UV-Vis sont réalisées au cours du temps jusqu'à ce que l'absorbance de la solution ne varie plus. La cuve est alors descellée dans une boîte à gants sous atmosphère d'argon et 3 mL de la solution est ajoutée à 6mL d'une solution modèle purgée avec de l'argon contenant le DTA à une concentration finale de 10^{-6} M dans le pilulier. L'échantillon est ensuite analysé par SPME-GC-PFPD. Le même protocole est utilisé pour la deuxième cuve mais celle-ci est irradiée jusqu'à atteindre une valeur d'absorbance initiale divisée par deux environ (2 minutes et 40 secondes).

Paramètres d'analyse des solutions modèles du chapitre 3 par SPME-GC-PFPD

Injection manuelle en immersion directe

Paramètres SPME :

Hauteur de jauge pendant extraction : 1,6 cm

Hauteur de jauge pendant désorption : 3 cm

Colonne : DB-WAX 30m x 0,25mm x 0,25 μ m

Mode : split 200/1

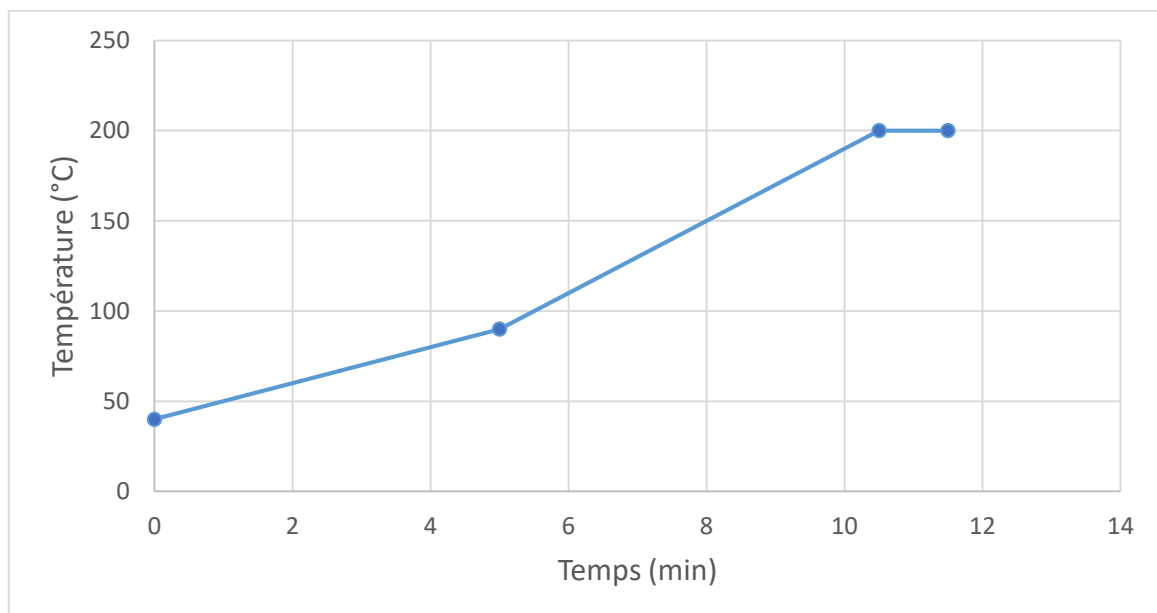
Temps d'extraction : 15 min

Temps de désorption : 7 min

Température de l'injecteur : 250°C

Température du détecteur : 300°C

Programme du four de la GC :



Protocoles des expériences présentées dans le chapitre 4

Protocole 4.1 : complexation de la méthionine avec la porphyrine **2a** par RMN ^1H 300 MHz

Une solution de méthionine (0,5mL ; 1mM) dans le D_2O est préparée et ajoutée à un tube RMN et un spectre RMN ^1H est mesuré. La Cu(II)-*méso*-Tétrakis(4-sulfonatophényle) porphyrine **2a** (0,120mg ; 0,25éq.) est ajoutée dans le tube RMN et le mélange obtenu est homogénéisé par sonication pendant 10min. Un spectre RMN ^1H est ensuite mesuré. Cette manipulation est réalisée 4 fois afin d'atteindre une concentration en **2a** de 1mM dans le tube RMN (1éq par rapport à la méthionine) et des spectres RMN ^1H sont mesurés pour chaque ajout de porphyrine **2a**.

Protocole 4.2 : complexation de la méthionine avec la porphyrine **2b** par RMN ^1H 300 MHz

Le protocole suivi est le même que celui utilisé avec la Cu(II)-*méso*-Tétrakis(4-sulfonatophényle) porphyrine **2a** mais en utilisant la Cu(II)-*méso*-Tétrakis(3-sulfonatophényle) porphyrine **2b** (0,0135mg ; 0,25éq).

Protocole 4.3 : dosage de la méthionine avec la porphyrine **2a** par RMN ^1H 400 MHz

Une solution A de méthionine (2mL ; 5mM) dans le D_2O est préparée et 0,5mL sont ajoutés à un tube RMN et un spectre RMN ^1H est mesuré. Une solution B de Cu(II)-*méso*-Tétrakis(4-sulfonatophényle) porphyrine **2a** (0,995mg ; 2mM) est préparée en utilisant la solution A comme solvant. La solution B (20 μL) est ajoutée dans le tube RMN et le mélange obtenu est homogénéisé par sonication pendant 10min, puis un spectre RMN ^1H est mesuré. Cette manipulation est répétée afin d'atteindre une concentration finale en **2a** de 0,81 mM dans le tube RMN (volumes de solution B ajoutés compris entre 20 μL et 50 μL).

Protocole 4.4 : suivi de l'absorbance de la porphyrine **2a** après ajout de méthionine par spectroscopie UV-Vis

Une solution de Cu(II)-*méso*-Tétrakis(4-sulfonatophényle) porphyrine **2a** (0,081mg ; 9 μM) dans l'eau ultra-pure est préparée et 3mL sont ajoutés à une cuve en quartz de 1cm de trajet optique et un spectre UV-Visible est mesuré. La méthionine (0,179mg ; 0,4 mM) est ensuite ajoutée dans la cuve et après 5 min d'agitation manuelle, un spectre UV-Visible est

mesuré. La cuve est ensuite mise sous agitation à 750 RPM et des spectres UV-Visible sont mesurés au cours du temps.

Protocole 4.5 : complexation du (1-méthylthio) pentane avec la CuTPP **13a** par RMN ^1H 300 MHz

Une solution de 1-(méthylthio) pentane (0,5mL ; 1mM) dans le D_2O est préparée et ajoutée à un tube RMN et un spectre RMN ^1H est mesuré. La CuTPP **13a** (1,69mg ; 5mM) est ajoutée dans le tube RMN et le mélange obtenu est homogénéisé par sonication pendant 10 min avant de réaliser l'acquisition d'un spectre RMN ^1H .

Protocole 4.6 : complexation de la méthionine avec la résine **22** par RMN ^1H 300 MHz

Une solution de méthionine (0,5mL ; 2mM) dans le D_2O est préparée et ajoutée à un tube RMN et un spectre RMN ^1H est mesuré. La résine **22** (0,4mg ; 0,25éq.) est ajoutée dans le tube RMN et la suspension obtenue est agitée par sonication pendant 10min. Après que la résine se soit déposée au fond du tube, un spectre RMN ^1H est mesuré. Cette manipulation est réalisée 4 fois afin d'atteindre une quantité de résine **22** égale à 1 mM dans le tube RMN (1 éq. d'un motif porphyrine par rapport à la méthionine) et des spectres RMN ^1H sont mesurés pour chaque ajout de résine **22**.

Protocole 4.7 : complexation de la méthionine avec la résine **23** par RMN ^1H 300 MHz

Le protocole suivi est le même que celui utilisé avec la résine **22** mais en utilisant la résine cuivrée **23** (0,41mg ; 0,25éq.).

Protocoles d'irradiation et d'analyse du chapitre 5

Protocole 5.1 : irradiations d'échantillons authentiques de Champagne avec le simulateur solaire Q-Sun 1000 et analyses par SPME-GC-PFPD

Dans deux ampoules de 5 mL protégées de la lumière avec du papier aluminium sont ajoutés 2 x 4,5 mL de Champagne et les ampoules sont scellées avec un chalumeau. Les échantillons sont ensuite placés au fond d'un cristalliseur rempli d'eau froide (profondeur = 4,5 cm) et sont irradiés à 250 W/m^2 avec le simulateur solaire Q-Sun 1000. Les ampoules sont ouvertes et les 9 mL de solution irradiée obtenus sont transférés dans un pilulier opaque de 10 mL. Le DTA dilué dans l'éthanol et présent à une concentration finale de 10^{-8} M dans l'échantillon est ajouté (9 μL) et le pilulier est scellé. L'échantillon est agité à 200 RPM pendant 15 min et la fibre SPME est directement insérée dans la solution pendant 15 min afin de réaliser l'extraction des composés. La fibre SPME est rétractée et placée dans l'injecteur de la GC-PFPD afin de désorber thermiquement les composés.

Protocole 5.2 : courbes d'étalonnage du méthaneéthiol et du DMDS dans le Champagne

Dans un pilulier opaque de 10 mL préalablement purgé avec de l'argon sont ajoutés 9 mL de Champagne fraîchement ouvert. Une solution mère de méthaneéthiol dilué dans le Champagne à une concentration de $2 \times 10^{-5} \text{ M}$ est ensuite ajoutée au pilulier (entre 4,5 μL et 36 μL) afin d'obtenir des concentrations finales dans les échantillons comprises entre 10^{-8} M et 10^{-7} M . Le DTA dilué dans l'éthanol et présent à une concentration finale de 10^{-8} M dans l'échantillon est ajouté (9 μL) et le pilulier est scellé. L'échantillon est ensuite analysé par SPME-GC-PFPD. Le même protocole est utilisé pour le DMDS mais avec une concentration mère de 10^{-6} M afin d'obtenir des concentrations finales dans les échantillons comprises entre $5 \times 10^{-10} \text{ M}$ et $5 \times 10^{-9} \text{ M}$ (entre 6 μL et 22 μL ajoutés). Les analyses sont faites directement après avoir préparé les solutions mères et les échantillons. Pour chaque concentration, deux échantillons différents ont été analysés.

Protocole 5.3 : complexation de la méthionine avec la résine **23** dans une solution modèle

Une quantité de résine **23** de 0,2 g/L est ajoutée à un pilulier de 25 mL contenant une solution modèle composée de riboflavine à une concentration de 250 µg/L et de méthionine à une concentration de 15 mg/L. L'échantillon est protégé de la lumière avec du papier aluminium et le pilulier est agité à 150 RPM pendant 7 jours avec un agitateur orbitalaire. L'échantillon est ensuite ouvert et la résine est filtrée avec une seringue équipée d'un filtre hydrophobe en PTFE contenant des pores de 0,45 µm. La solution obtenue est placée dans des ampoules qui sont scellées, irradiées pendant 12 min et analysées par SPME-GC-PFPD selon le protocole 5.1. Pour cette expérience, le mode split 200 a été utilisé pour réaliser les analyses.

Protocole 5.4 : complexation de la méthionine avec plusieurs quantités de résine **23** dans le Champagne

Des quantités de résine **23** comprises entre 0,2 et 2 g/L sont ajoutés à des piluliers de 25 mL contenant 12 mL de Champagne fraîchement ouvert. Les échantillons sont protégés de la lumière avec du papier aluminium et les piluliers sont agités à 150 RPM pendant 7 jours avec un agitateur orbitalaire. Les échantillons sont ensuite ouverts et la résine est filtrée avec une seringue équipée d'un filtre hydrophobe en PTFE contenant des pores de 0,45 µm. La solution obtenue est placée dans des ampoules qui sont scellées, irradiées pendant 12 min et analysées par SPME-GC-PFPD selon le protocole 5.1.

Protocole 5.5 : suivi cinétique de la complexation de la méthionine avec 0,6 g/L de résine **23** dans le Champagne

La résine **23** (0,6 g/L) est ajoutée à des piluliers de 25 mL contenant 12 mL de Champagne fraîchement ouvert. Les échantillons sont protégés de la lumière avec du papier aluminium et sont agités à 250 RPM pendant plusieurs durées comprises entre 6h et 7 jours. Les échantillons sont ensuite ouverts et la résine est filtrée avec une seringue équipée d'un filtre hydrophobe contenant des pores de 0,45 µm. La solution obtenue est placée dans des ampoules qui sont scellées, irradiées pendant 12 min et analysées par SPME-GC-PFPD selon le protocole 5.1.

Paramètres d'analyse des solutions authentiques de Champagne par SPME-GC-PFPD

Injection manuelle par immersion directe de la fibre dans la solution

Paramètres SPME :

Hauteur de jauge pendant l'extraction : 1,6 cm

Temps d'extraction : 15 min

Hauteur de jauge pendant la désorption : 3 cm

Temps de désorption : 7 min

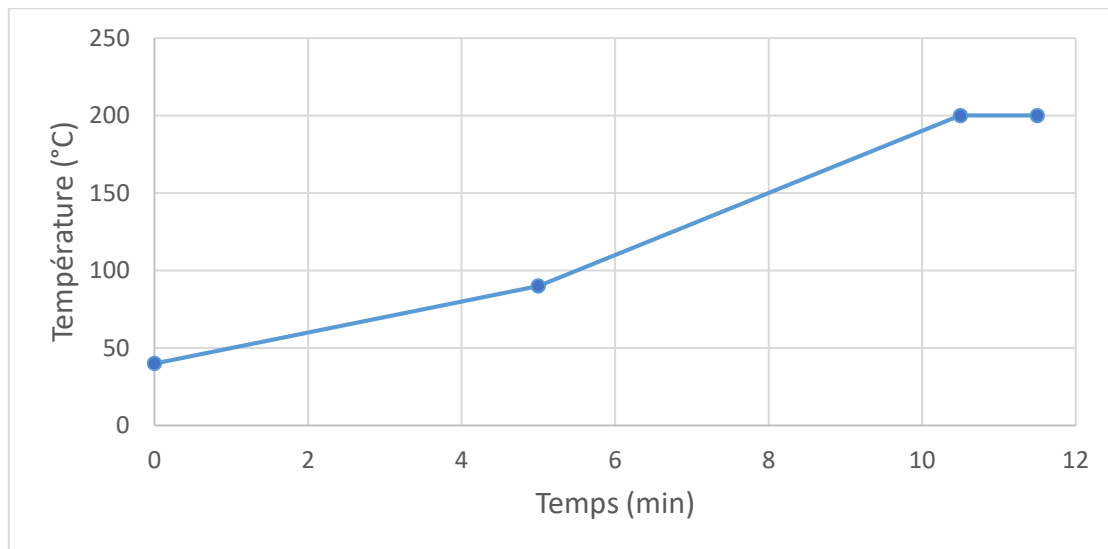
Colonne : DB-WAX 30m x 0,25mm x 0,25 μ m

Température de l'injecteur : 250°C

Mode : splitless

Température du détecteur : 300°C

Programme du four de la GC :



Comprendre et prévenir le cycle photocatalytique responsable du goût de lumière dans les vins blancs et les Champagnes

L'exposition à la lumière des vins blancs et des Champagnes conduit à une altération du goût et de la couleur plus connue sous le nom de « goût de lumière ». Ce défaut apparaît à travers des processus photoinduits complexes et est dû à la formation de produits soufrés volatiles issus de la photooxydation d'acides aminés soufrés présents naturellement. Le mécanisme admis dans la littérature explique la formation de ces espèces soufrées volatiles par un transfert d'électron photoinduit entre de la riboflavine à l'état excité triplet et de la méthionine. Le radical cation de la méthionine qui en résulte est ensuite dégradé en espèces soufrées volatiles à travers une étape de décarboxylation. Intrigués par certains aspects de ce mécanisme, nous avons étudié en détail les étapes clés du mécanisme de dégradation de la méthionine ainsi que les différents paramètres qui peuvent influencer la formation des espèces soufrées volatiles. Les résultats de cette étude indiquent que le processus complet serait en réalité plus complexe. Une méthode de protection permettant de minimiser l'apparition du goût de lumière a été développée. Une résine insoluble dans les solutions hydroalcooliques a été synthétisée et son efficacité à complexer la méthionine a été évaluée. Nous avons montré que la résine peut fortement diminuer la formation d'espèces soufrées volatiles sur des échantillons authentiques de Champagne irradiés.

Mots clés : goût de lumière, photochimie, riboflavine, Champagne, vins blancs

Understanding and preventing the photocatalytic cycle responsible for the light struck fault in white wines and Champagnes

The exposure of white wines and Champagnes to sunlight or artificial light results in the appearance of the "light struck" fault described as the alteration of the wine's color and taste. The latter occurs through a complex photochemical process and is attributed to the formation of volatile sulfur species that are formed through the photoinduced oxidation of sulfur-containing amino acids. The mechanism described in the literature involves electron transfer photosensitization by the riboflavin excited triplet state, followed by the carboxylate-assisted fragmentation of the methionine radical cation. Intrigued by several aspects of this mechanism, we embarked on the exploration of the key steps and parameters that can affect the formation of volatile sulfur species. Our results indicate that the process is more complex than previously thought. We also propose a technology to prevent the light struck fault to occur. A resin that efficiently binds methionine was developed. We showed that it could drastically decrease the formation of volatile sulfur species in authentic irradiated Champagne samples.

Keywords : light-struck flavor, photochemistry, riboflavin, Champagne, white wines