Étude des propriétés antiradicalaires et antioxydantes de différentes substances solubles en milieu hydroalcoolique. Comparaison avec les performances de l'anhydride sulfureux

Scavenging and antioxidant properties of different soluble compounds in hydroalcoholic media. Comparison with SO_2 efficiency

N. VIVAS, N. VIVAS de GAULEJAC, M.F. NONIER

Tonnellerie Demptos détaché au CESAMO
(Centre d'Etude Structurale et d'Analyse des Molécules Organiques),
Université Bordeaux I, 351, cours de la Libération, 33405 Talence.
Email : n.vivas@cesamo.u-bordeaux.fr

MOTS CLÉS : SO_2, antioxydants, antiradicalaire, consommation de l'oxygène dissout, chélation des métaux, THBP.

KEY WORDS: SO_2, *antioxidants, scavenging, dissolved oxygen consumption, chelation of metals, THBP.*

RÉSUMÉ

Le SO_2 est habituellement utilisé dans les vins rouges comme antioxydant. Cependant, les analyses réalisées sur plusieurs vins après une aération n'expriment pas les effets caractéristiques d'un antioxydant, en particulier le ralentissement ou l'accélération de la vitesse de consommation de l'oxygène et la diminution du potentiel d'oxydoréduction. L'étude des conditions d'oxydation du SO_2 montre d'une part, que l'oxygène moléculaire est peu actif sur le SO_2 et, d'autre part, que les formes activées de l'oxygène sont plus réactives ($O_2^{\cdot -}$, $OH^{\cdot -}$, H_2O_2). De plus, les composés phénoliques des vins, plus particulièrement les catéchines et les procyanidines oligomères, consomment plus rapidement l'oxygène dissous que le SO_2. La recherche de nouveaux antioxydants s'impose pour assurer une protection efficace des vins rouges contre les oxydations. Ces composés d'origines diverses pourraient être avantageusement employés lors de la conservation en cuve, de l'assemblage, de la filtration et de la mise en bouteilles. Les produits retenus, en raison de leur utilisation dans l'agroalimentaire et pour leurs propriétés antioxydantes empruntant des voies différentes sont, au côté du SO_2 : l'acide ascorbique, la quercétine, l'acide éthylène diamine tétracétique EDTA, le 2',4',5'-trihydroxybutyrophénone THBP, la cystéine et le glutathion. Parmi ceux ci, le THBP semble être le plus avantageux, pour des doses de 50 à 100 mg/l. Ce produit agit d'une part, en ralentissant la vitesse de consommation de l'oxygène dissous et, d'autre part, en piégeant les radicaux superoxydes. *(Bulletin O.I.V., 2001, vol. 74, n° 843-844, pp. 331-345).*

ABSTRACT

SO_2 is generally used in red wines as antioxidant. However several analyses conduced on different wines after oxygenation cannot express the characteristics effect of an antioxydant, particularly the incidence on oxygen rate consumption and oxidoreduction potential variations. The study of oxidation conditions of SO_2 showed that molecular oxygen and different activated reactives forms ($O_2^{\cdot -}$, $OH^{\cdot -}$, H_2O_2) are not very efficient on SO_2. Moreover, wines phenolic compounds, eg. catechins, oligomeric proanthocyanidins, used oxygen faster than SO_2. With regards to the context, the research about new enological antioxidant, were interesting for real antioxidant protection of red wines. We are focusing our study on different molecules as ascorbic acid, cystein, glutathion, quercetin, ethylen diamine tetracetic acid, 2',4',5'-trihydroxybutyrophenon (THBP). Some of them were used in food and beverages. THBP presents good results, for a concentration of 50 to 100 mg/l. It prevents oxidation by, one hand, inhibition of oxygen consumption and, on the other, by scavenging activity. (Bulletin O.I.V., 2001, vol. 74, n° 843-844, pp. 331-345).

INTRODUCTION

Le SO_2, de part sa large polyvalence, s'est imposé en œnologie comme antiseptique, antioxydant et antioxydasique. Cependant, de plus en plus d'hygiénistes reprochent à ce produit de nombreux effets secondaires indésirables sur l'organisme. Les doses sont actuellement revues à la baisse et même son utilisation est discutée. Il convient, donc, de préciser sa réelle efficacité et d'optimiser son emploi. Le SO_2 est utilisé en œnologie depuis plus d'un siècle pour ses nombreuses propriétés, ainsi que pour son aptitude à combiner l'éthanal sous une forme inodore. Il présente également un fort pouvoir extractif sur les anthocyanes des pellicules en début de cuvaison (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1976). La plupart de ces propriétés ont été largement étudiées (Blouin, 1965; Dubernet, 1974; Devèze, 1977; Lonvaud-Funel, 1986; Amrani Joutei, 1993) et les conclusions des différents auteurs sont concordantes. En revanche, pour le rôle antioxydant du SO_2 dans les vins rouges, les résultats diffèrent : cette propriété est soit confirmée par certains auteurs (Prilinger, 1963; Pontallier et Ribéreau-Gayon, 1983; Laborde, 1987), soit rejetée par d'autres (Ribéreau-Gayon, 1933; Kielhofer, 1963; Pontallier, 1979; Zamora, 1989; Vivas *et al.*, 1993). Par contre dans les vins blancs, plus pauvres en extrait sec, le SO_2 présente toutes ces propriétés (Vivas et Glories, 1996).

Les antioxydants sont généralement des molécules organiques capables de limiter les effets d'une oxydation consécutive à la pénétration d'oxygène dissous et à l'effet catalytique de la lumière et des cations métalliques. Ils agissent soit en consommant très rapidement l'oxygène dissous, soit en inhibant la phase d'activation de l'oxygène moléculaire, soit en retenant les métaux catalyseurs, soit encore en captant les radicaux libres (activité antiradicalaire).

RÉSULTATS

Observations sur le rôle du SO_2 dans les vins

Sur différents vins rouges (n = 18), on mesure la variation de la vitesse instantanée de consommation de l'oxygène dissous due à une supplémentation en SO_2. L'étude de la Vi de différents vins rouges supplémentés ou non en SO_2 (50 mg/L) ne présente pas de différence sensible. Le suivi des courbes de EH, des différents échantillons de vins, avec ou sans SO_2, au cours d'une saturation en oxygène, donnent des résultats quasiment identiques. En revanche, l'ajout d'acide ascorbique conduit d'une part, à une augmentation de la vitesse de consommation de l'oxygène et d'autre part, à un EH inférieur. On observe également que le SO_2 participe faiblement à la disparition de l'oxygène dissous dans les vins (*tableau I*). Il est donc très probable que d'autres composés majeurs interviennent comme agents antioxydants endogènes. Parmi les différentes fractions phénoliques d'un vin rouge, on montre que la fraction contenant les catéchines et les procyanidines oligomères consomme le plus rapidement l'oxygène. Le SO_2, dans les conditions particulières des vins rouges, reste faiblement oxydable.

Nous avons préparé différents types de milieux hydroalcooliques contenant des traces de cuivre et supplémentés ou non en SO_2 (100 mg/). Les

résultats de dosage de l'éthanal par méthode enzymatique après 15 et 30 jours sont regroupés sur le *tableau II*. On note que les composés phénoliques sont les principaux producteurs d'éthanal au cours de l'oxydation des milieux. Le SO_2 ajouté aux différents milieux modèle ou dans les vins augmente légèrement la quantité d'éthanal produite. Ces résultats sont toujours retrouvés sur de nombreuses expériences réalisées sur des vins rouges de plusieurs régions. Les mêmes observations ont été faites par Laborde (1987).

Tableau I / *Table I*

Influence de la consommation d'oxygène sur la teneur en SO_2 libre et combiné de différents vins rouges (n = 23 ; O_2 consommé 8 mg/l ; SO_2 en mg H_2SO_4/l)

Incidence of oxygen consumption on the content of free and bound SO_2 of several red wines (n = 23 ; O_2 consuming 8 mg/l ; SO_2 in mg H_2SO_4/l)

	t0	Après consommation de l'oxygène	Signification au seuil	
			α = 0,05	α = 0,1
SO_2 libre	21,1	19,7	NS	NS
SO_2 combiné	13,4	13,1	NS	NS

Tableau II / *Table II*

Production d'éthanal au cours de la conservation en présence d'air de différents milieux (Solution hydroalcoolique contenant 1 mg/l Cu II)

Acetaldehyde production during air conservation of different solutions (Hydroalcoolic solution containing 1 mg/l of Cu II)

Milieu	Production d'éthanal (mg/l)	
	15 jours	30 jours
1 Milieu hydroalcoolique	0	trace
2 1 + SO_2†	2	12,5
3 1 + catéchine‡	5	34
4 3 + SO_2†	7	41
5 Vin rouge	40	78
6 5 + SO_2†	51	86
7 5 Déféqué au noir animal	9	17

† 100 mg/l de SO_2
‡ 3 g/l de catéchine

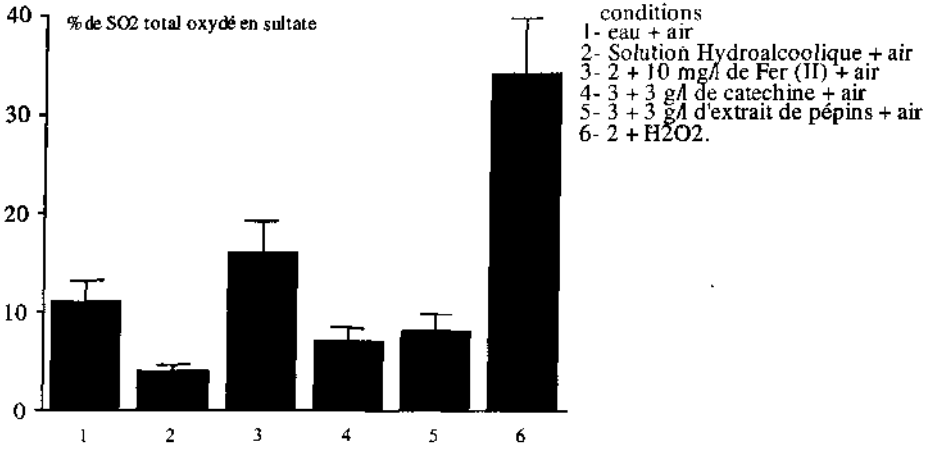
On observe généralement que l'oxygène moléculaire est peu actif sur le SO_2 (*figure 1*, conditions 1 à 5) alors que H_2O_2, une des formes activées de l'oxygène, permet l'oxydation de 30 à 40% de SO_2 en 10 jours (condition 6). La catéchine et les tanins de pépins semblent limiter l'oxydation du SO_2, l'alcool possède un effet similaire (conditions 2, 4, 5).

Le fer catalyse l'activation de l'oxygène (production de radicaux libres et de H_2O_2) et favorise l'oxydation du SO_2 (condition 3). Si on compare, dans les mêmes conditions expérimentales, l'oxydabilité de différents composés phénoliques rencontrés dans les vins (acide gallique, catéchine, procyanidine B3, vescalagine), on constate par dosage HPLC qu'en 10 jours 30 à 45% des produits sont oxydés par l'oxygène seul, 50 à 70% par l'oxygène en présence de fer et 80 à 100% avec H_2O_2. Il s'avère que les composés phénoliques des vins rouges sont plus oxydables que le SO_2 et sont alors susceptibles de capter prioritairement l'oxygène dissous.

FIGURE 1

Évolution de la teneur en SO_2 total oxydé dans différents milieux 10 jours après un apport d'oxygène (8 mg/l) (oxygène apporté soit sous forme d'air reconstitué, N_2/O_2, 20/80, soit sous forme d'H_2O_2)

Evolution of oxidized total SO_2 in different solution 10 days after oxigenation (8 mg/l) (oxygen supplied)



Dans un chai, nous avons conservé un lot de vins dans une série de 18 barriques neuves et usagées. Au cours des soutirages, il a été contrôlé la quantité d'oxygène dissous et le SO_2 libre et combiné sont dosés après le soutirage puis après disparition complète de l'oxygène dissous. Les résultats d'un de ces essais sont reportés sur le *tableau III*.

On constate que le SO_2 a très peu varié lors de la consommation de l'oxygène apporté par le soutirage. Ces essais confirment les résultats obtenus au laboratoire ainsi que les autres travaux sur le sujet (Millet *et al.*, **1995**; Vivas *et al.*, 1995).

Tableau III / *Table III*

Suivi dans un chai de la variation du SO_2 libre et du SO_2 combiné lors d'un soutirage (Les résultats d'une moyenne de 18 barriques sont exprimés en mg H_2SO_4/l)

Recording in a cellar of the free and bound SO_2 level during a racking (Results are average of 18 barrels and expressed in mg/l of H_2SO_4/l)

		Soutirage	8 jours‡
5 g de soufre brûlé:	SO_2 l	35,6 ± 4,3	32,9 ± 5,1
	SO_2 c	72,5 ± 8,4	78,1 ± 4,0
10 g de soufre brûlé:	SO_2 l	47,7 ± 5,3	43,7 ± 4,7
	SO_2 c	102,1 ± 7,4	99,3 ± 8,3

‡ après 8 jours pour cette expérience la totalité de l'oxygène dissous (5 mg/l) a été consommé.

Étude des propriétés antioxydantes du SO_2. Comparaison avec différents antioxydants. Application à la recherche de nouveaux antioxydants pour les vins

Les observations précédentes ont montré que le SO_2 n'exprimait pas dans les vins rouges des propriétés antioxydantes. La question posée alors est de savoir si cette molécule étant combinée aux composés phénoliques sous une forme stable avec les tanins et instable avec les anthocyanes, ne peut exprimer des caractéres antioxydants ; ou bien si elle ne possède qu'un faible effet antioxydant. Pour répondre à ces questions, nous étudions en comparaison avec d'autres antioxydants, les propriétés du SO_2 en relation avec son action antioxydante. Les produits retenus, en raison de leur utilisation dans l'agroalimentaire et pour leurs propriétés antioxydantes empruntant des voies différentes sont, au côté du SO_2 : l'acide ascorbique, la quercétine, l'acide éthylène diamine tétracétique EDTA, le 2',4',5'-trihydroxybutyrophénone THBP, la cystéine et le glutathion.

Considérations générales

Les antioxydants peuvent agir de plusieurs manières pour protéger les constituants du vin de leur autoxydation :

– certaines molécules cèdent aisément leur proton et s'oxydent très rapidement, dans ce cas elles agissent en privant le milieu d'oxygène. C'est le cas de l'acide ascorbique, efficace en milieu lipidique (Sapers et Hicks, 1989), dans les milieux aqueux, son action est controversée car il peut être en fonction de sa concentration prooxydant ou antioxydant (Mahoney et Graf, 1986 ; Kanner et Shapira, 1989);

– certains composés tels que la quercétine et le THBP agissent en grande partie grâce à leur aptitude à chélater les cations métalliques. Le milieu privé de ces métaux de transition devient faiblement oxydable. Pour la quercétine, cette propriété est en relation avec un groupement 3',4'-orthodiphénol et un groupe 3,4-hydroxy-cétonique. Le THBP est un antioxydant naturel de l'ail dont l'action est comparable à celle de la quercétine. L'EDTA est aussi un chélatant mais son emploi n'est pas autorisé. Son effet chélatant n'est maximum

qu'au voisinage de la neutralité, pour laquelle les fonctions carboxyliques sont pleinement dissociées. Mais les chélates formés ne masquent pas l'effet catalytique des métaux (Graf *et al.*, 1984 ; Mahoney et Graf, 1986). Nous l'étudierons dans la suite du travail car les acides organiques sont susceptibles de chélater les métaux et peuvent entraîner des phénomènes similaires pouvant minimiser l'effet des antioxydants utilisés;

– d'autres produits comme la cystéine peuvent d'une part, se combiner avec des quinones pour donner des composés stables et empêcher leur polymérisation (Montgomery, 1983), d'autre part inhiber la formation de radicaux libres primaires et chélater les métaux (Svenson, 1988);

– le glutathion agit à plusieurs niveaux en s'oxydant rapidement comme l'acide ascorbique, en chélatant les métaux (Williamson, 1989) et en piègeant les radicaux superoxydes (Neil *et al.*, 1981).

Ces produits peuvent également être employés en association pour leurs effets synergiques (Robert, 1991).

Mesure de la vitesse initiale de consommation de l'oxygène des antioxydants

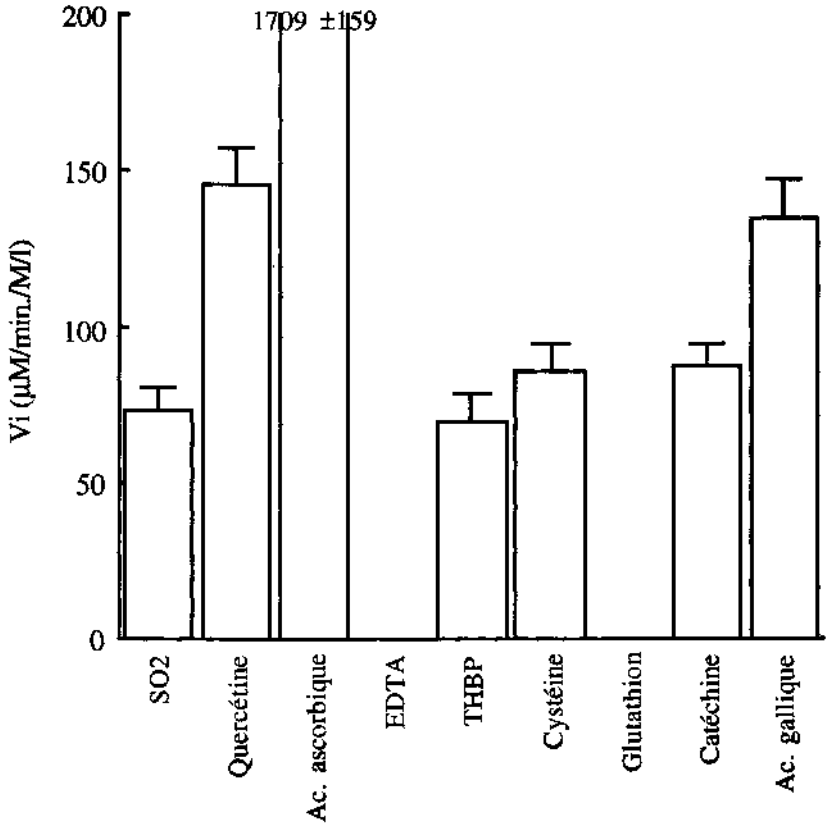
Dans une première expérience, nous avons mesuré la Vi de solutions pures d'antioxydants en milieu hydroalcoolique et en conditions catalytiques (1 mg Cu/l et 10 mg Fe/l). On observe que l'ac. ascorbique consomme rapidement de grandes quantités d'oxygène par rapport aux autres antioxydants (*figure 2*). Le SO_2 à une Vi comparable à celle du THBP et à la cystéine. L'EDTA et le glutathion ne consomment pas d'oxygène. Enfin, à titre indicatif, nous donnons la Vi de l'acide gallique et de la catéchine, deux phénols rencontrés dans les vins.

Dans une seconde expérience, nous étudions l'incidence des antioxydants sur la Vi de solution hydroalcoolique d'acide gallique, et de catéchine à 2 g/l. Sur une solution d'acide gallique, les produits suivants stoppent la consommation de l'oxygène : SO_2 (0,015 $M.l^{-1}$), quercétine (0,003 $M.l^{-1}$), EDTA (0,003 $M.l^{-1}$), THBP (0,005 $M.l^{-1}$), cystéine (0,008 $M.l^{-1}$), glutathion (0,003 $M.l^{-1}$). Seul l'acide ascorbique provoque une augmentation de la Vi de 75% par rapport au témoin et à la dose de 0,005 $M.l^{-1}$. Sur la solution de catéchine, seuls l'EDTA et le THBP aux mêmes concentrations, stoppent la consommation de l'oxygène. Pour les autres produits, le calcul du coefficient d'effet antioxydant Ka (Vi milieu contenant un antioxydant / Vi milieu témoin) donne les valeurs suivantes : SO_2 (0,39), quercétine (0,56), acide ascorbique (7,4), cystéine (0,3) et glutathion (0,9). Les produits ayant l'effet antioxydant le plus marqué, après l'EDTA et le THBP, sont la cystéine, le SO_2 et la quercétine.

Dans un milieu hydroalcoolique de composition proche du vin avec un substrat phénolique pur, à protéger de l'autoxydation, le SO_2 se comporte parfaitement ; il protège de l'autoxydation l'acide gallique et la catéchine en ralentissant la Vi de la solution. La cystéine est à cet égard plus performante. Cependant, d'autres produits s'avèrent beaucoup plus efficaces puisqu'ils stoppent complètement la consommation de l'oxygène : ce sont l'EDTA et le THBP.

Ensuite, la Vi a été mesurée sur plusieurs vins rouges (n = 24) en fonction de quantités croissantes d'antioxydants. Les résultats entre les vins sont comparables et pour en discuter nous avons regroupé sur la *figure 3* un cas représentatif. On note que dès 50 mg/l un groupe d'antioxydants s'avère très

FIGURE 2
Mesure de la Vi de solutions hydroalcooliques d'antioxydants purs
Measurement of oxygen initial rate consumption in hydroalcoholic solution of pure antioxidants



efficace ; il s'agit de la quercétine, de l'EDTA, du THBP et du glutathion. La cystéine et l'acide ascorbique demeurent faiblement antioxydants même à fortes concentrations. Quant au SO_2, pour exprimer toutes ses propriétés antioxydantes, il nécessite des doses supérieures à 100 mg/l ; c'est-à-dire au-dessus des normes raisonnables de sulfitage.

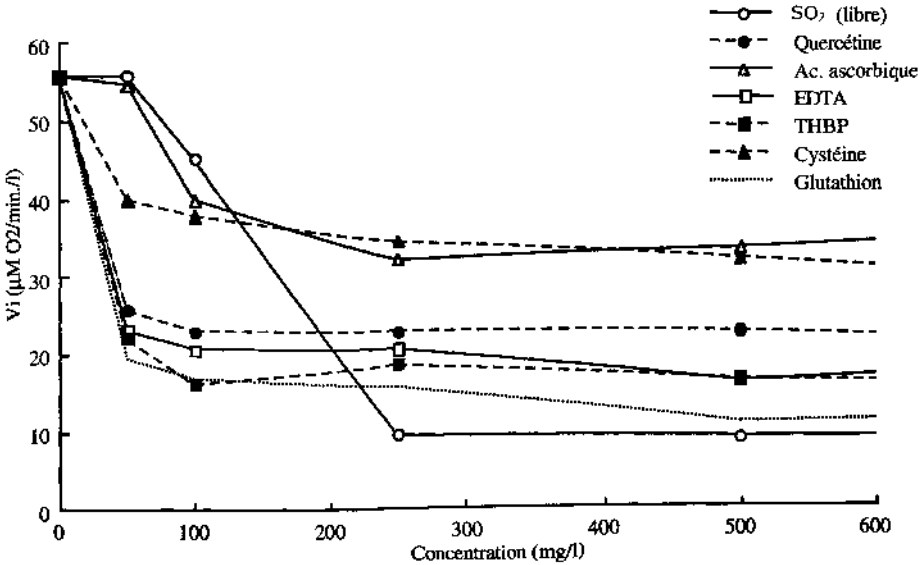
Activité antiradicalaire des antioxydants

L'activité antiradicalaire des antioxydants est mesurée sur l'anion superoxyde. On estime le pourcentage d'anions superoxydes résiduels des milieux

FIGURE 3

Incidence de la dose d'antioxydants employée sur la Vi d'un vin rouge

Incidence of antioxydant concentrations on red wine oxygen initial rate consumption



supplémentés en antioxydants par rapport au témoin. Les résultats moyens sont rassemblés dans le *tableau IV*. On observe que l'EDTA favorise la production de radicaux superoxydes. La cystéine D et L⁻ sont peu efficaces comme antiradicalaires. Les plus efficaces sont l'acide ascorbique (25%) et le THBP (36%). Le SO_2 et le glutathion occupent une position intermédiaire.

Tableau IV / *Table IV*

Mesure de l'activité antiradicalaire des antioxydants à l'égard du radical superoxyde (Concentration: 1 µM/l)

Measurement of scavenging activities for antioxidants on superoxide radical (Concentration : 1 µM/l)

Produits	% d'anions superoxydes
SO_2	64,7 ± 2,4
Quercétine	17,2 ± 1,1
Ac. asorbique	25,1 ± 1,8
EDTA	105,2 ± 5,2
THBP	36,4 ± 5,7
L-cystéine	96,1 ± 0,9
D-cystéine	89,8 ± 1,1
Glutathion	68,1 ± 2,2

Par la suite, nous avons mesuré les activités antiradicalaires en fonction de la concentration en antioxydant. Il apparaît que pour la plupart des produits dans une gamme de concentration de 1 à 0,1 g/l l'activité n'est que légèrement modifiée. Le classement établi précédemment ne change pas pour ces concentrations. Il convient de préciser que le SO_2 perd 50% de son activité pour des concentrations inférieures à 1 g/l.

Dans une dernière expérience, nous avons étudié l'effet antiradicalaire du SO_2, de l'acide ascorbique et du THBP en milieu hydroalcoolique contenant des procyanidines dimères pures (*tableau V*). Pour de fortes concentrations, le SO_2 ne présente pas d'activité antiradicalaire dans les solutions de procyanidines B4 et B2. En revanche, l'acide ascorbique et le THBP limitent l'accumulation de radicaux superoxydes dans les solutions. Ainsi, le SO_2 possède effectivement une activité antiradicalaire sur l'anion superoxyde. Cependant, cette propriété, sans être autant importante que pour l'acide ascorbique et le THBP, nécessite de très fortes doses de SO_2, bien supérieures au g/l. Pour les doses d'emploi en œnologie, le SO_2 n'intervient pas comme antiradicalaire.

Lorsque les expériences sont réalisées dans des vins rouges, il apparaît que pour des doses de 50 à 250 mg/l, les antioxydants ne modifient pas l'activité antiradicalaire des vins. Seul l'acide ascorbique augmente leur activité;

Tableau V / *Table V*

Incidence de quelques antioxydants sur l'accumulation d'anions superoxydes. Etude en milieu hydroalcoolique et en présence de procyanidines dimères

Incidence of antioxidants on residual superoxide radical content. Study in hydroalcoolic media with different dimer procyanidins

	Concentration (g/l)	% d'anions superoxydes résiduels
SO_2	3,75	62
	0,375	92
Procyanidine B4	0,05	48
avec SO_2	3,75	64
	0,375	62
Procyanidine B2	0,05	42
avec SO_2	3,75	50
	0,375	46
Ac. ascorbique	0,25	18
Procyanidine B4	0,05	46
avec ac. ascorbique	0,25	26
Procyanidine B2	0,05	42
avec ac. ascorbique	0,25	24
THBP	0,25	33
Procyanidine B4	0,05	45
avec THBP	0,25	38
Procyanidine B2	0,05	39
avec THBP	0,25	27

mais les différences enregistrées restent limitées. Il apparaît que dans les vins rouges la grande quantité de composés phénoliques confère naturellement au milieu une aptitude à piéger les radicaux superoxydes ; les antioxydants n'intervenant pas dans ce phénomène. Les tanins des vins rouges de Bordeaux (2,5 à 4 g/l) sont responsables de cette propriété.

Études par titrage potentiométrique des antioxydants

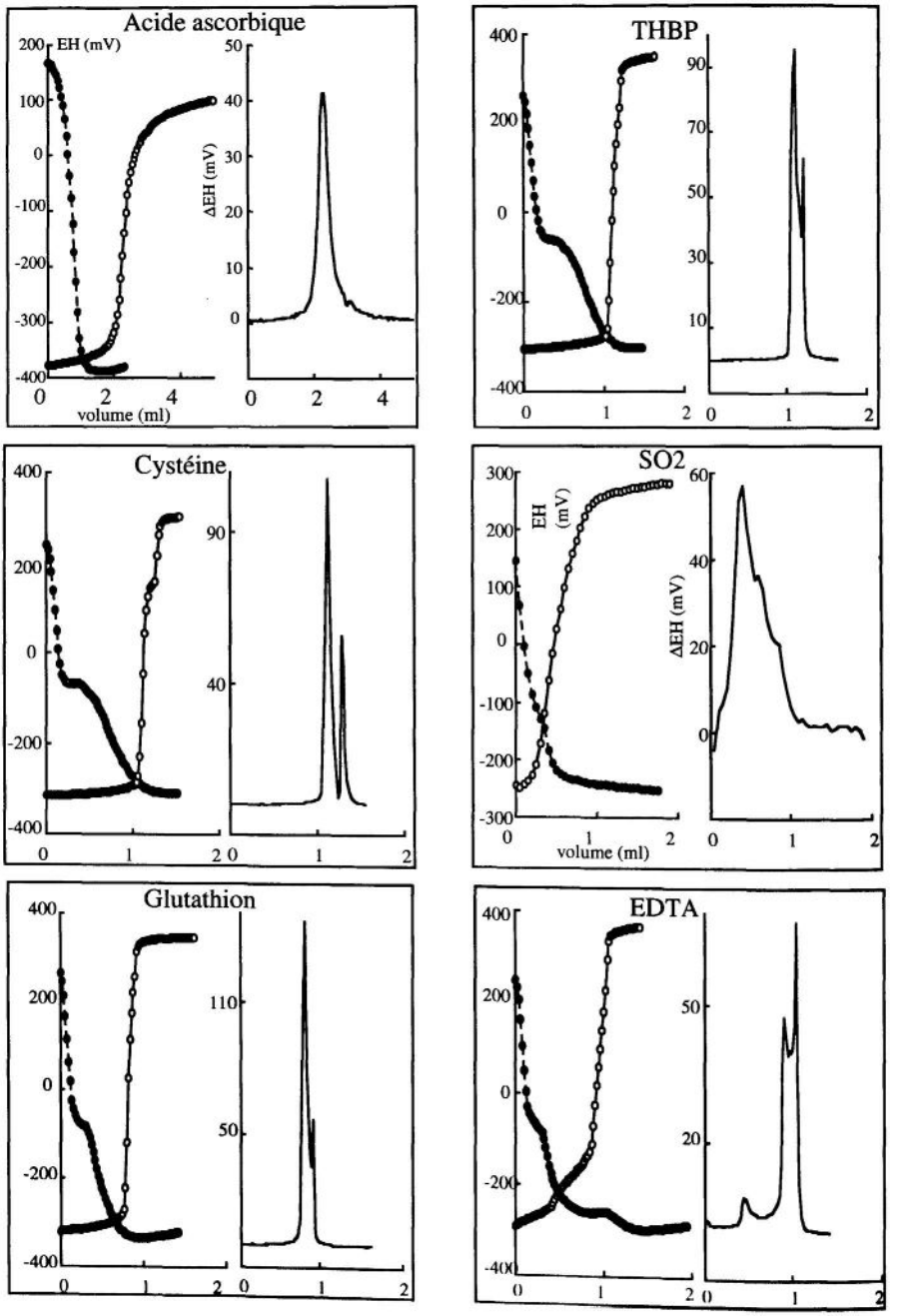
Les différents antioxydants ont été titrés en milieu hydroalcoolique à la dose de 100 mg/l. Les courbes obtenues en réduction et en oxydation sont portées sur la figure 4. La plupart des produits commerciaux présentent des impuretés en quantités plus ou moins importantes ; on en retrouve principalement pour le THBP, la cystéine, le glutathion et l'EDTA. Ces impuretés présentent des Eo différents et sont facilement distinguées du principe actif. Il s'agit probablement de produits de transformation des antioxydants au cours de leur conservation. Le titrage potentiométrique permet alors de contrôler la qualité et la pureté des produits antioxydants. Parmi les produits titrés, l'acide ascorbique présente un comportement particulier. Il a un Eo de −140 mV et limite l'élévation du EH au cours du titrage en oxydation. Cette molécule est oxydable entre −350 et 100 mV. Elle est alors suceptible de limiter efficacement les effets d'une oxydation brutale. Mais dans les conditions normales de EH des vins variant entre 150 et 250 mV, l'acide ascorbique ne peut avoir qu'un effet instantané, puisqu'à ces valeurs de EH il sera rapidement oxydé. Les autres produits présentent une plus large gamme d'oxydation comprise, en moyenne, entre −300/−350 mV et 300/350 mV. Ces antioxydants ne sont pas complètement oxydés dans les vins ; alors ils pourront agir à la suite d'une aération provoquant des variations de EH de +50 à +100 mV. Le Eo des produits sont de 190 mV pour l'EDTA, 50 mV pour le THBP, 28 mV pour le glutathion, −45 mV pour la cystéine, −62 mV pour le SO_2. Ainsi, le glutathion, la cystéine, le SO_2 et l'acide ascorbique ont des Eo relativement bas, ils sont donc majoritairement ou totalement sous une forme oxydée au EH des vins. Les antioxydants les plus efficaces seront donc ceux qui ont un Eo plus élevé comme le THBP et le glutathion, qui au EH moyen des vins restent en partie sous forme réduite et donc actifs. Mais, si au lieu de vouloir protéger les vins d'une oxydation, on souhaite les conserver en conditions de réduction, l'emploi de produits aux Eo faibles, inférieurs aux Eo des vins, est alors préférable. L'EDTA est abandonné car il forme avec le fer et le cuivre des complexes organométalliques favorisant la formation de radicaux libres oxygénés approches.

Discussion

Le SO_2 est habituellement utilisé dans les vins rouges comme antioxydant. Cependant, les analyses réalisées sur plusieurs vins après une aération n'expriment pas les effets caractéristiques d'un antioxydant, en particulier le ralentissement ou l'accélération de la vitesse de consommation de l'oxygène et la diminution du potentiel d'oxydoréduction. L'étude des conditions d'oxydation du SO_2 montre d'une part, que l'oxygène moléculaire est peu actif sur le SO_2 et, d'autre part, que les formes activées de l'oxygène sont plus réactives ($O2^-$, OH^-, H_2O_2). De plus, les composés phénoliques des vins, plus par-

www.demptos.fr
LA BIBLIOTHEQUE R&D DEMPTOS
Publications scientifiques et techniques

FIGURE 4
Titrage potentiométrique des antioxydants étudiés



ticulièrement les catéchines et les procyanidines oligomères, consomment plus rapidement l'oxygène dissous que le SO_2. Ces résultats confirment ceux de Zamora (1989), qui employant une méthode différente, ont démontré que le SO_2 ne modifie pas le niveau d'oxydation des vins rouges à l'instar des vins blancs pour lesquels il note une diminution du niveau d'oxydation des échantillons supplémentés en SO_2 par rapport au témoin. Les résultats de Vivas *et al.* (1993) vont également dans le même sens. Nous avons pu constater qu'une partie importante du SO_2 combiné provient de combinaisons avec les composés phénoliques, la fraction la plus rapidement combinante est précipitable à l'éthanol, elle correspond aux tanins liés aux polysaccharides. Le pouvoir combinant des tanins des vins varie pour nos échantillons de 20 à 48%. Ces résultats sont en relation avec ceux de Blouin *et al.* (1995) qui constatent que dans les vins rouges, 20 à 30% du SO_2 combiné n'est pas lié à des aldéhydes, à des cétoacides et à des substances classiquement reconnues comme combinant le SO_2. L'étude structurale des combinaisons du SO_2 et des flavanols se poursuit actuellement. Cependant, le SO_2 doit toujours être utilisé dans le traitement des vins. Il reste important lors de l'encuvage de la vendange pour à la fois, favoriser l'implantation rapide des levures fermentaires *Saccharomyces cerevisiae*, et pour inhiber le développement prématuré des bactéries lactiques *Leuconostoc œnos* ainsi que la polyphénoloxydase du raisin, la tyrosinase. Lors de l'élevage, il assure avec la température, la maîtrise du développement bactérien et des levures de contamination. Enfin son emploi reste nécessaire pour combiner sous forme inodore l'éthanal et les autres aldéhydes produits lors d'une aération plus ou moins brutale du vin.

Il n'est pas moins vrai que la recherche de nouveaux antioxydants s'impose pour assurer une protection efficace des vins rouges contre les oxydations. Ces composés d'origines diverses pourraient être avantageusement employés lors de la conservation en cuve, de l'assemblage, de la filtration et de la mise en bouteilles. Parmi ceux ci, le THBP semble être le plus avantageux, pour des doses de 50 à 100 mg/l. Ce produit agit d'une part, en ralentissant la vitesse de consommation de l'oxygène dissous et d'autre part, en piégeant les radicaux superoxydes.

Enfin, les résultats, pris dans leur globalité, permettent d'interpréter certains faits observés et d'en remettre d'autres en cause :

– L'ensemble de nos résultats permet d'interpréter ceux de Gétas et Fabre (1990) ; ces auteurs en utilisant le principe de la DBO, constatent que lors d'une oxydation plus de 80% de l'oxygène est consommé par les polyphénols et ce malgré la présence de SO_2 libre.

– Les travaux de Pontallier (1981) ont clairement montré que les principales modifications de la composition des vins rouges et de la structure de leurs composés phénoliques sont liées en grande partie à la production d'éthanal. Il constate que lorsque les doses de SO_2 libre dépassent 35 à 40 mg/l, le vin évolue plus lentement que son témoin n'en contenant que 15 à 25 mg/l. Il interprète ceci à partir des théories de l'époque, par l'action antioxydante du SO_2. Or, il s'agit plutôt du fait que le SO_2 combine l'éthanal, qui n'est plus disponible pour provoquer les changements dont il est admis qu'ils sont en relation avec les oxydations. Nous avons, par ailleurs, constaté que la supplémentation d'un vin en éthanal permet de faire évoluer sa composition et sa couleur d'une façon similaire à celle provoquée par une ou plusieurs aérations. Enfin, l'ajout d'une solution d'éthanal préalablement combinée mole à mole

avec du SO_2, dans le même vin ne provoque que de faibles changements, essentiellement sur la couleur.

– Dans le dosage du SO_2, on a coutume parfois de faire un premier dosage suivi d'un second avant lequel on ajoute quelques gouttes d'H_2O_2 pour oxyder le SO_2 et évaluer la part des composés phénoliques dans la consommation exédentaire de l'iode. En fait, H_2O_2 n'est que très minoritairement utilisée pour oxyder SO_2. Nous rappelons que dans les vins la présence de traces de métaux provoque instantanément à la lumière la formation de radicaux libres oxygénés par réaction de Fenton. Or, les composés phénoliques ont, de part leur concentration et leur activité antiradicalaire, un effet prioritaire sur le piégeage des radicaux libres formés. Dans ces conditions, nous préconisons d'avantage la méthode de Blouin (1965) qui consiste à bloquer le SO_2 par l'éthanal permettant de manière plus satisfaisante d'évaluer la part des composés phénoliques dans la consommation de l'iode.

* *
*

Bibliographie

Amrani Joutei (K.), 1993. – Recherches sur la localisation des anthocyanes et des tanins dans le raisin. Les conditions de leurs extractions. Thèse de l'Université de Bordeaux II.

Blouin (J.), 1965. – Contribution à l'étude des combinaisons de l'anhydride sulfureux dans les moûts et les vins. Thèse d'Ingénieur-Docteur, Université de Bordeaux.

Blouin (J.), Stonestreet (E.), Krivsky (A.), 1995. – Nouvelles connaissances sur les combinaisons carbonylées du SO_2 dans les vins. Compte rendu "Journée technique du CIVB", Bordeaux (ed.) CIVB.

Devèze (M.), 1977. – Les problèmes microbiologiques de la conservation des vins blancs doux, théorie et pratique de l'utilisation des traitements thermiques. Thèse d'Ingénieur-Docteur, Université de Bordeaux.

Dubernet (M.), 1974. – Recherches sur la tyrosinase de *Vitis vinifera* et la laccase de *Botrytis cinerea*. Applications technologiques. Thèse de 3° cycle, Université de Bordeaux.

Gétas (J.), Fabre (S.), 1990. – Mesure de l'absorption d'oxygène dans les moûts par la méthode D.B.O. Résultats et applications. *Rev. Fr. d'Œnologie*, **124**, 21-26.

Graf (E.), Mahoney Jr. (J.R.), Bryant (R.G.), Eaton (J.W.), 1984. – Iron-catalyzed hydroxyl radical formation. Stringent requirement for free iron coordination site. *J. Biol. Chem.*, **259**, 3620-3624.

Kanner (J.), Shapira (N.), 1989. – Oxygen- and metal-ion-dependent nonenzymatic browning of grape juice. ACS Symposium series 405, "Quality factors of fruits and vegetables", 55-64.

Kielhofer (O.), 1963. – Etat et action de l'acide sulfureux dans les vins. Règles de son emploi. Actes 1° Symposium International d'Œnologie, Bordeaux (ed.) INRA, Paris, pp 77-92.

Laborde (J.L.), 1987. – Contribution à l'étude des phénomènes d'oxydation dans les vins rouges. Rôle joué par l'anhydride sulfureux. Thèse 3°cycle, Université de Bordeaux II.

Lonvaud-Funel (A.), 1986. – Recherches sur les bactéries lactiques du vin. Fonctions métaboliques, croissance, génétique plasmidique. Thèse doct. es sciences. Université de Bordeaux II.

Mahoney Jr. (J.R.), Graf (E.), 1986. – Role of α-tocopherol-ascorbic acid, citric acid and EDTA as oxidants in model systems. *J. Food Sci.*, **51**, 1293-1296.

Millet (V.), Vivas (N.), Lonvaud-Funel (A.), 1995. – Evolution de la microflore bactérienne des vins rouges pendant l'élevage en barriques. *J. Sci. Tech. Tonnellerie*, **1**, 123-150.

Montgomery (M.W.), 1983. – Cystein as an inhibitor of browning in pear juice concentrate. *J. Food Sci.*, **48**, 951-952.

Neil (C.J.), Banford (J.C.), Brown (D.H.), Smith (W.E.), 1981. – A relationship between thiols and superoxide ion. *FEBS Lett.*, **133**, 175-177.

Pontallier (P.) 1979. – Observations sur les conditions d'élevage des vins rouges. Mém. DEA, Université de Bordeaux II.

Pontallier (P.), 1981. – Recherches sur les conditions d'élevage des vins rouges. Rôle des phénomènes oxydatifs. Thèse docteur-ingénieur, Université de Bordeaux II.

Pontallier (P.), Ribéreau-Gayon (P.), 1983. – Influence de l'aération et du sulfitage sur l'évolution de la matière colorante des vins rouges au cours de la phase d'élevage. *Connaissance Vigne Vin*, **17**, 105-120.

Prilinger (F.) 1963. – Protection des vins de l'oxydation par l'emploi de l'acide sulfureux et de l'acide ascorbique. Actes 1° Symposium International d'Œnologie, Bordeaux (ed.) INRA, Paris, pp. 159-167.

Ribéreau-Gayon (J.), 1933. – Contribution à l'étude des oxydations et des réductions dans les vins. Application à l'étude du vieillissement et des casses. Delmas (ed.), Bordeaux.

Ribéreau-Gayon (J.), Peynaud (E.), Ribéreau-Gayon (P.), Sudraud (P.) 1976. – Traité d'Œnologie. Tome III, IV. (ed.) Dunod, Paris.

Robert (S.), 1991. – Contribution à l'étude de l'auto-oxydation et du processus de brunissement de la moutarde de Dijon. Thèse Institut National Polytechnique de Lorraine.

Sapers (G.M.), Hicks (K.B.), 1989. – Inhibition of enzymatic browning in fruits and vegetables. ACS Symposium series 405, "Quality factors of fruits and vegetables", 29-43.

Svensson (B.E.), 1988. – Thiols as myeloperoxidase-oxidase substrates. *Biochem. J.*, **253**, 441-449.

Vivas (N.), Zamora (F.), Glories (Y.), 1993. – Incidence de certains facteurs sur la consommation de l'oxygène et sur le potentiel d'oxydoréduction dans les vins. *J. Int. Sc. Vigne Vin*, **27**, 23-34.

VIVAS (N.), LONVAUD-FUNEL (A.), GLORIES (Y.), 1995. – Observations sur l'augmentation de l'acidité volatile dans les vins rouges au cours de leurs élevage en barriques. *J. Sci. Tech. Tonnellerie*, **1**, 81-122.

VIVAS (N.), GLORIES (Y.) 1996. – Effet antioxydant du dioxyde de soufre (SO_2) dans les vins rouges. *Riv. Vitic. Enol.*, XLIX, **3**, 51-56.

WILLIAMSON (G.) 1989. – Purification of glutathione-S-tranferase from lamb muscle and its effect on lipid peroxydation. *J. Sci. Food Agric.*, **48**, 347-360.

ZAMORA (F.) 1989. – Contribution à l'étude des phénomènes d'oxydation du vin. Mém. DEA, Université de Bordeaux II.