



# Rapport

**Client:** PROCORK

**Numéro d'affaire:** ONFRPROC19D

**Date :** 10 Décembre 2019

**Rédigé par:** Marine Douguet

**Approuvé par :** Charlotte Tournier

Référence : EQ-REA23

Révision : 002

Date : 05/10/2018



## Votre étude

*Mesures d'OTR et analyses moléculaires comparatives de deux vins : l'un contenu dans une bouteille fermée par un bouchon en liège naturel ; l'autre dans une bouteille fermée par un bouchon Procork*

### CONTACT CLIENT

Dr Gregor Christie  
CEO ProCork  
Tel: +61 419 599 597  
Email: [gregor@procorktech.com](mailto:gregor@procorktech.com)

ProCork  
Suite 768 585 Little Collins Street Melbourne  
VIC 3000



### CONTACT SENSENET

Marine DOUGUET  
Consultante Analyses Sensorielles et  
Moléculaires - SENSENET France  
Tél: +33 (0)2 99 55 17 95  
Mobile: + 33 (0)7 69 45 39 84  
Email: [mdouguet@sensenet.net](mailto:mdouguet@sensenet.net)

SENSENET France  
By ODOURNET  
3 allée de Bray  
35510 CESSON SEVIGNE  
[www.sensenet.net](http://www.sensenet.net)  
[www.odournet.com](http://www.odournet.com)

### SOMMAIRE

1	Objectifs et contexte de l'étude	3
2	Résumé des prestations	4
3	Protocole expérimental	5
3.1	Mesures d'OTR	5
3.2	Protocole d'analyses moléculaires	5
4	Résultats et discussion	7
4.1	Résultats des mesures d'OTR	7
4.2	Résultats des analyses moléculaires	9
5	Conclusion	14
	Annexe 1 : Résultats détaillés des analyses GC-TofMS	15
	Annexe 2: Chromatogrammes	17

# 1 Objectifs et contexte de l'étude

La société Procork a développé une nouvelle technologie de membrane permettant de contrôler le niveau d'oxygène entrant dans des bouteilles de vin bouchées par des bouchons en liège naturel. Cette membrane est constituée de 5 couches qui laissent passer sélectivement l'oxygène et permet donc une micro-aération du vin tout en bloquant la migration des lignines et les défauts de type « goût de bouchon ».

Afin de confirmer la neutralité organoleptique de la membrane Procork, un test triangulaire a déjà été conduit en nos laboratoires à l'aide de vins synthétiques : l'un mis en contact avec la membrane Procork, l'autre, sans membrane, jouant le rôle de témoin. Ce test a conclu à la neutralité organoleptique de la membrane Procork.

Afin d'investiguer plus en détails l'impact de la membrane Procork sur la composition chimique des vins, deux bouteilles de Château Teyssier Saint-Emilion Grand Cru 2008 ont été comparées : l'une fermée par un bouchon de liège naturel, l'autre par un bouchon équipé de la technologie Procork.

Ces deux bouteilles ont été évaluées par le « Master of Wine » Peter Scudamore-Smith. Ce dernier a déclaré :

“2008 Bordeaux/ natural cork: aged, flat, bretty, palate extracted, dried out, past any drinking window, Brett more obvious.  
2008 Bordeaux/ ProCork: fresher and brighter nose, molasses fruit/oak development, more fruit volume, sweeter palate.

COMPARISON...The oxidative regime of natural cork has emphasized brett, lessened freshness, accelerated ageing and palate dryness, now a poor wine; ProCork has held nose freshness and muted the brett, allowed ageing without oxidation, kept the wine fresh and the palate able to display aged fruit/tannin complexity.”

Pour approfondir la comparaison de ces deux bouteilles, Procork a sollicité la société Sensenet pour mesurer l'OTR (Oxygen Transfer Rate) des deux bouteilles en utilisant une sonde de détermination optique par fluorescence de l'oxygène. L'objectif était de confirmer la différence d'apport en oxygène entre les deux bouteilles, en présence/absence de la membrane Procork.

Dans un second temps, Sensenet a réalisé des analyses moléculaires (GC-TofMS) sur l'espace de tête de ces deux bouteilles de vin. Ces analyses moléculaires ont permis de caractériser l'évolution en composés organiques volatiles entre les deux bouteilles.

De plus, afin de comparer le caractère « Brett » (mentionné par Mr Scudamore-Smith à l'égard de la bouteille fermée par du liège naturel uniquement) des bouteilles, des analyses moléculaires spécifiques ont été conduites en ciblant les trois marqueurs typiques de ce défaut : 4-ethylphenol [4-EP], 4-ethylguaiacol [4-EG] and 4-ethylcatechol [4-EC].

Ce document résume les résultats obtenus suite aux mesures d'OTR et aux analyses moléculaires réalisées.

## 2 Résumé des prestations

Titre : Mesures d'OTR et analyses moléculaires comparatives de deux vins : l'un contenu dans une bouteille fermée par un bouchon en liège naturel ; l'autre dans une bouteille fermée par un bouchon Procork.		
<b>Plan expérimental</b>		
Nombre d'échantillons	Deux bouteilles du même vin : 1 fermée avec un bouchon en liège naturel (contrôle), l'autre avec un bouchon Procork	
<b>Echantillonnage</b>		
Protocole	Extraction de l'espace de tête des bouteilles : le produit a été introduit dans une microchambre à 27°C puis balayé pendant 10 minutes avec un flux d'hélium pour être piégé sur tube Tenax®.  Injection liquide directe : Injection directe du liquide sur tube Tenax®.	
<b>Analyses</b>		
<b>Analyses moléculaires</b>		
<b>Paramètres</b>	<b>Méthodes</b>	<b>Caractéristiques</b>
GC-TofMS	Méthode interne	Analyse sur espace de tête : scan complet  Analyse par injection liquide directe : analyse ciblée sur 4-ethylphenol [4-EP], 4-ethylguaiacol [4-EG] and 4-ethylcatechol [4-EC].
<b>Autres analyses</b>		
<b>Paramètres</b>	<b>Méthodes</b>	<b>Caractéristiques</b>
GC-TofMS	Méthode interne Procork	Sonde de détermination optique par fluorescence de l'oxygène.

### 3 Protocole expérimental

Le vin sélectionné pour cette étude est un vin rouge : un Saint-Emilion Grand Cru de 2008 du Chateau Teyssier.

Deux bouteilles différentes ont été utilisées : l'une, identifiée « N », fermée par un bouchon de liège naturel, la deuxième, identifiée « Procork », fermée par un bouchon Procork. Ces deux bouteilles ont été stockées dans les mêmes conditions pendant 11 ans.



#### 3.1 Mesures d'OTR

Le principe est de mesurer l'appauvrissement en oxygène au-dessus du bouchon. A partir de ces valeurs, le taux de transmission d'oxygène ou OTR (Oxygen Transmission Rate) a été estimé.

Une sonde intégrant un capteur d'oxygène optique de type DOpO2 (Spectrecology, St Petersburg, Floride, USA) a été utilisée pour mesurer le pourcentage d'oxygène présent dans l'air piégé dans une cellule de mesure installée au-dessus du bouchon.

The logiciel associé Fluorometrics DOpO2 Viewer a été utilisé pour collecter les valeurs.

Une cellule de mesure de volume connu a été scellée hermétiquement juste au-dessus du bouchon. Cette cellule comprenait un capteur fixé au-dessus d'une plaque de verre ; le tout scellé sur une chambre de très faible volume. Cette cellule de mesure a été scellée sur la bouteille en utilisant des feuilles d'aluminium maintenues par de la colle époxy.

La teneur en oxygène dans la cellule a été mesurée en positionnant la sonde au-dessus de la cellule de mesure. Les mesures ont été réalisées 0, 1, 4, 5, 7, 11, 14 et 21 jours après installation des cellules de mesure sur les bouteilles. Pour assurer la répétabilité des mesures et un positionnement identique de la sonde à chaque mesure, des marques ont été dessinées sur la cellule. Les conditions ambiantes (température et pression) ont été enregistrées.

Cette technique innovante et non invasive fait l'objet d'un dépôt de brevet (en cours) par la société Procork.



#### 3.2 Protocole d'analyses moléculaires

##### 3.2.1 Protocole d'échantillonnage de l'espace de tête pour analyse de la composition en composés organiques volatiles

L'espace de tête de chaque vin a été échantillonné en utilisant une microchambre individuelle (M-CTE250, Markes Int), chauffée à 27°C, pour mimer la température que le vin atteint lorsqu'il est placé en bouche. En effet, pendant la dégustation, certains composés volatiles ne se volatilisent que lorsque le vin est placé en bouche en raison de leur température d'ébullition.



Une quantité définie de vin (40 mL) a été introduite dans la microchambre. Afin de collecter l'espace de tête de l'échantillon, un tube adsorbant (Tenax®/Sulphicarb) a été placé au-dessus de la microchambre. Un volume total de 1000 mL d'espace de tête a été collecté au cours des 10 minutes d'échantillonnage. Pour encourager le transport des composés organiques volatiles de l'échantillon vers le tube Tenax un flux d'azote (pureté N<sub>2</sub> de 99,999%) de 10 L/min a été utilisé. L'échantillonnage ainsi décrit a été réalisé en double pour chaque échantillon. Un tube additionnel, sans échantillon, a été préparé dans les mêmes conditions pour servir de blanc. Après prélèvement, les tubes Tenax® ont été maintenus fermés par des écrous placés à leurs extrémités jusqu'à l'analyse moléculaire.



L'échantillonnage en microchambre a été réalisé immédiatement après ouverture des bouteilles afin d'éviter toute oxydation additionnelle du vin au contact de l'air ambiant. Le vin a été prélevé à l'aide d'une pipette graduée en verre.

### 3.2.2 Protocole d'échantillonnage par injection liquide directe pour analyses des marqueurs Brett

Une quantité définie de vin (1 µL) a été injectée directement sur un tube Tenax® en utilisant une seringue en verre et l'outil Markes Calibration Solution Loading Rig (CSLR, Markes, UK).



### 3.2.3 Analyses moléculaires

Notre instrument est composé d'un chromatographe en phase gazeuse (Agilent 7890 model, US), d'un spectromètre de masse à temps de vol (modèle BenchTOF-dx, Almsco, Allemagne) et d'une unité de désorption thermique (Unity2, Markes, UK). Les tubes de désorption contenant les échantillons ont été connectés à l'unité de thermodésorption en amont de l'instrument GC-TofMS.

Lors de la phase initiale, ils ont été soumis à des températures élevées pour désorber les COV capturés lors de l'échantillonnage. Les COV ont ensuite été entraînés par refroidissement thermoélectrique, à l'aide d'un flux d'hélium (pureté He de 99,9999%), vers un piège froid à basse température où ils ont à nouveau été retenus. Le piège froid a ensuite été chauffé de façon drastique pour libérer et entraîner tous les COV dans la GC afin de permettre une séparation chromatographique. Après séparation sur la colonne GC, les composés atteignent le détecteur de masse à temps de vol où ils sont ionisés et fragmentés.

En raison des fortes teneurs en alcools et esters, des phénomènes de co-élutions ont été observés. Pour cela, les analyses et le traitement des données ont été réalisés trois fois en utilisant différentes conditions d'analyses ; un « filament delay » de 12 minutes a également été utilisé.

## 4 Résultats et discussion

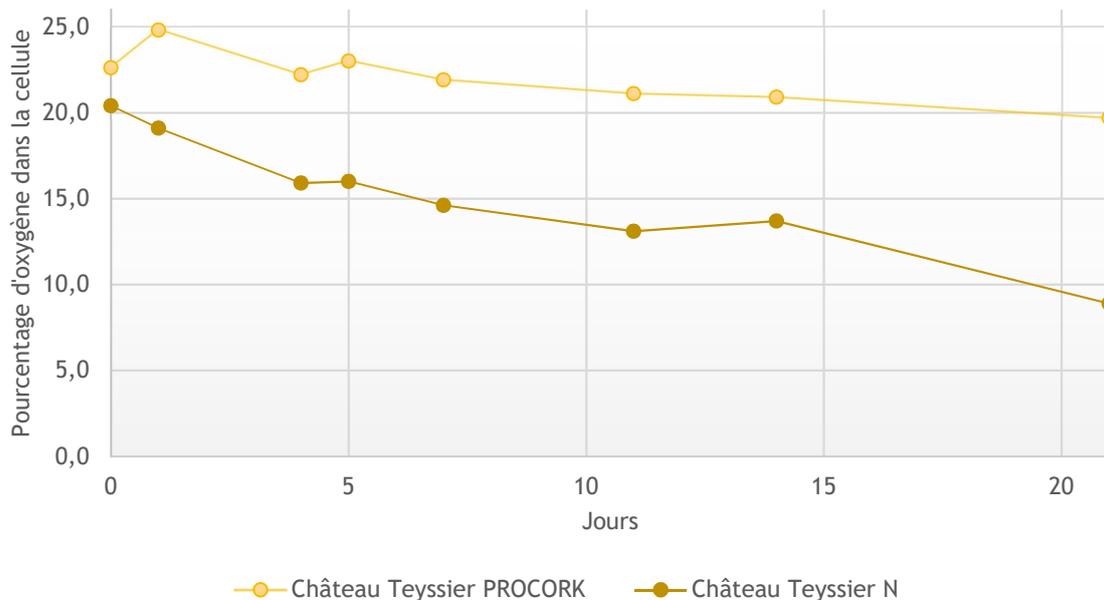
### 4.1 Résultats des mesures d'OTR

Le tableau ci-dessous présente les pourcentages d'oxygène mesurés au sein des cellules placées sur les deux bouteilles, au cours du temps :

Echantillon	Jours							
	0	1	4	5	7	11	14	21
<b>Château Teyssier PROCORK</b>	22,6%	24,8%	22,2%	23,0%	21,9%	21,1%	20,9%	19,7%
<b>Château Teyssier N</b>	20,4%	19,1%	15,9%	16,0%	14,6%	13,1%	13,7%	8,9%

Les graphiques ci-dessous montrent l'évolution au cours du temps de la teneur en oxygène au sein des cellules placées sur la bouteille N et la bouteille PROCORK.

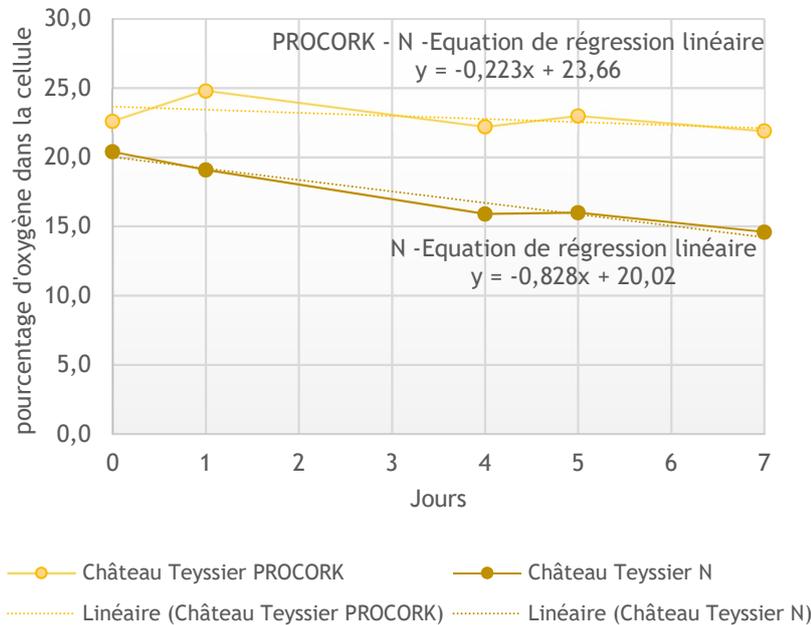
Evolution du pourcentage d'oxygène au cours du temps au sein des cellules de mesure



Ce graphique montre clairement que la vitesse d'évolution est plus importante au sein de la bouteille N qu'au sein de la bouteille PROCORK. Après 21 jours, le pourcentage d'oxygène dans la cellule de la bouteille N atteint 8,9% alors qu'il est toujours de 19,7% dans celle de la bouteille PROCORK.

Pour estimer l'OTR au sein des deux bouteilles, le volume de la cellule ainsi que la vitesse d'évolution de la teneur en oxygène ont été utilisés. La vitesse d'évolution de la teneur en oxygène a été estimée en utilisant une modélisation de la courbe obtenue par régression linéaire. Seuls les points de mesure initiaux ont été considérés pour cette modélisation. En effet, avec le temps, la diminution de la teneur en oxygène dans les cellules diminue légèrement en raison d'une diminution de la force motrice. En ne considérant que les points de mesures des 8 premiers jours, on s'affranchit de cet effet.

Evolution du pourcentage d'oxygène au cours du temps  
au sein des cellules de mesure  
*Zoom sur les huit premières mesures*



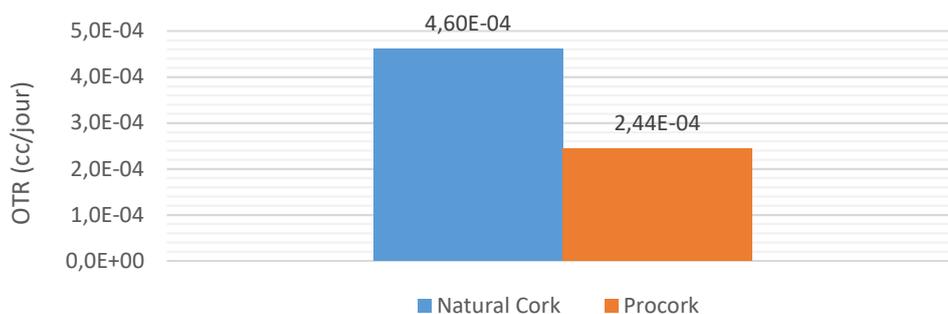
La vitesse de diminution de la teneur en oxygène et le volume de la cellule ont ensuite été utilisés pour estimer l'OTR des deux bouteilles. L'OTR correspond au volume d'oxygène qui passe dans les bouteilles à travers le bouchon sur un intervalle de 24 heures. La formule suivante a été utilisée pour son calcul :

$$OTR = \frac{\text{Volume de la cellule} \times |\text{Pente de la droite de régression linéaire}|}{100}$$

Echantillon	Valeur absolue de la pente de la droite de régression linéaire	Volume (cc)	OTR (cc/jour)
<b>Chateau Teyssier PROCORK</b>	0,223	0,109556256	$2,44 \cdot 10^{-4}$
<b>Chateau Teyssier N</b>	0,828	0,055608887	$4,60 \cdot 10^{-4}$

Les estimations d'OTR obtenues par ce calcul sont présentées sur le graphique ci-dessous.

**Estimation de l'OTR**



Ces résultats montrent que l'OTR de la bouteille N ( $4,60 \cdot 10^{-4}$  cc/jour) est 1,9 fois supérieure à celle de la bouteille PROCORK ( $2,44 \cdot 10^{-4}$  cc/jour). Ceci confirme l'efficacité de la membrane PROCORK à contrôler la quantité d'oxygène entrant dans la bouteille de vin.

## 4.2 Résultats des analyses moléculaires

### 4.2.1 Comparaison des compositions en composés organiques volatiles des deux bouteilles

Des analyses GC-TofMS ont été réalisées sur les échantillons prélevés sur les deux bouteilles de vin. Le tableau ci-dessous présente les principaux résultats des analyses GC-TofMS (identification et quantification des composés organiques volatils présents). Les composés présents en quantité supérieure à leur seuil olfactif théorique (OTV) ou en concentrations notables ainsi que les totaux par familles chimiques y sont résumés. Les résultats détaillés sont disponibles en ANNEXE 1.

Une comparaison des concentrations mesurées aux seuils olfactifs des composés (si disponible) est proposée. Le code couleur ci-dessous indique combien de fois la concentration mesurée est supérieure au seuil olfactif théorique du composé. Cela permet de rendre compte de la potentielle participation du composé à l'odeur globale de l'échantillon.

CODE COULEUR :

<1 x le seuil olfactif théorique
1-10 x le seuil olfactif théorique
10-50 x le seuil olfactif théorique
50-100 x le seuil olfactif théorique
100-1000 x le seuil olfactif théorique
>1000 x le seuil olfactif théorique

## PRINCIPAUX RÉSULTATS DES ANALYSES GC-TOFMS

Compound	CAS No.	Concentration (ug/m3)		OTV disponible?
		N bottle	PROCORK bottle	
<b>Alcohols</b>				
2-Propanol, 2-methyl-	75-65-0	0,0	9,2	oui
1-Propanol	71-23-8	1 543,6	1 118,4	oui
1-Propanol, 2-methyl-	78-83-1	5 327,2	5 525,3	oui
1-Butanol	71-36-3	113,5	124,3	oui
1-Butanol, 3-methyl-	123-51-3	7 279,2	9 818,0	oui
1-Butanol, 2-methyl-	137-32-6	3 656,2	3 787,8	oui
1-Pentanol	71-41-0	0,0	0,9	oui
1-Hexanol	111-27-3	124,6	125,9	oui
Phenylethyl Alcohol	60-12-8	0,0	52,5	non
Total Alcohols		18103,3	20577,3	
<b>Aldehydes</b>				
Propanal, 2-methyl-	78-84-2	66,1	18,5	oui
Methacrolein	78-85-3	172,1	76,3	oui
Butanal, 3-methyl-	590-86-3	1 005,6	602,5	oui
2-Butenal, 2-methyl-, (E)-	497-03-0	79,6	33,0	non
Total Aldehydes		1379,4	740,3	
<b>Aliphatic Hydrocarbons</b>				
Total Aliphatic Hydrocarbons		29,8	15,0	
<b>Amines</b>				
Cyclobutylamine	2516-34-9	40,9	0,0	non
Methylamine	74-89-5	1,7	0,0	oui
Total Amines		42,6	0,0	
<b>Aromatic Alcohol</b>				
Phenol	108-95-2	0,0	8,5	oui
Total Aromatic Alcohol		0,0	8,5	
<b>Aromatic compounds</b>				
Ethylbenzene	100-41-4	1,9	11,0	oui
p-Xylene	106-42-3	4,3	12,5	oui
Total Aromatic compounds		7,4	27,3	
<b>Esters</b>				
Ethyl Acetate	141-78-6	8 503,1	8 425,5	oui
Propanoic acid, ethyl ester	105-37-3	168,5	152,0	oui
Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	97-62-1	397,4	291,9	oui
Isobutyl acetate	110-19-0	1 041,4	83,1	oui
Diethyl carbonate	105-58-8	0,0	2,3	non
2-Propen-1-ol, 2-methyl-, acetate	820-71-3	0,0	4,3	non
Butanoic acid, ethyl ester	105-54-4	191,0	146,1	oui
Acetic acid, butyl ester	123-86-4	19,6	0,0	oui
Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester, (S)-	687-47-8	934,0	900,5	non
Butanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester	108-64-5	133,8	94,3	oui
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	123-92-2	1 692,9	312,1	oui
1-Butanol, 2-methyl-, acetate	624-41-9	1 228,1	62,0	oui
Hexanoic acid, ethyl ester	123-66-0	502,5	382,3	non
Octanoic acid, ethyl ester	106-32-1	169,2	226,1	oui
Decanoic acid, ethyl ester	110-38-3	0,0	32,1	oui
Total Esters		15517,7	11506,6	
Total Ethers		69,2	72,5	
<b>Furans</b>				
Total Furans		69,2	89,8	
<b>Ketones</b>				
Total Ketones		2,0	3,2	
<b>Oxygen-containing compounds</b>				
Total Oxygen-containing compounds		15,2	58,7	
<b>Sulfur-containing compounds</b>				
Thiophene, 3-methyl-	616-44-4	23,1	0,0	non
Diethyl disulfide	110-81-6	17,3	0,0	oui
Total Sulfur-containing compounds		40,4	0,0	
<b>Terpenes</b>				
Total Terpenes		0,0	6,0	
Total COV		35276,3	33105,4	

Les concentrations en gras et en rouge sont supérieures au seuil olfactif théorique

Les concentrations en vert n'excèdent pas 0.1 µg/m3

### *Neutralité chimique de la Membrane Procork*

Les résultats des analyses moléculaires réalisées montrent qu'aucun composé additionnel provenant de la membrane n'a été détecté dans l'échantillon Procork par rapport à l'échantillon témoin. Cela confirme l'absence de relargage de molécules depuis la membrane Procork vers le vin, même après onze ans de stockage.

### *Impact de la membrane Procork sur la composition en composés organiques (COV) des vins*

Au total, 64 composés chimiques ont été identifiés par GC-TofMS. Certains d'entre eux sont présents uniquement dans l'une des bouteilles. D'autres sont présents dans les deux bouteilles mais en concentrations différentes. Les principales familles chimiques représentées sont les : alcools, esters et aldéhydes. La concentration totale en COV est supérieure dans la bouteille N (35 276, 3  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) par rapport à la bouteille PROCORK (33 105,4  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ).

#### *Alcools*

L'échantillon PROCORK contient des teneurs plus élevées en alcools de « fusel » (aussi appelés alcools supérieurs) (1-propanol, 2-méthyl-1-propanol, 3-méthyl-1-butanol, ...) (20 577,3  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) que l'échantillon N (18 103, 3  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ). Seul le 1-Propanol a une concentration plus élevée dans la bouteille N que dans la bouteille PROCORK. Les concentrations en 3-méthyl-butanol (isoamyl alcohol) et 2-méthyl butanol (active amyl alcohol) sont notamment supérieures dans l'échantillon PROCORK. Ces composés sont connus pour apporter respectivement des notes fromage/balsamique et grillées/oignon/fruits rouges et pour influencer la complexité aromatique du vin.

Dans les deux échantillons, les concentrations en 1-Propanol (Bouquet/Fruit mûr), 2-méthyl-1-Propanol (Solvant), 3-méthyl-butanol (Fromage/Balsamique) and 2-méthyl butanol (grillées/oignon/fruits rouges) sont au-dessus de leur seuil olfactif théorique.

Trois alcools ont été détectés uniquement dans l'échantillon PROCORK : 2-méthyl-2-propanol (Camphré ; 9,2  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ), 1-Pentanol (Frais/Alcool ; 0,9  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) and Phenylethyl Alcohol (Rose ; 52,5  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ).

#### *Aldéhydes*

L'échantillon PROCORK contient des concentrations nettement inférieures en aldéhydes (740,3  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) que l'échantillon N (1379,4  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ). Les trois aldéhydes majoritaires sont : l'Isobutyraldéhyde (2-méthyl propanal (fruité/âtre)), l'Isovaleraldéhyde (3-méthyl butanal (Fruité/Rance/Aigre)) et la Methacroléine (Floral). Pour ces trois composés, les concentrations mesurées sont supérieures aux seuils olfactifs théoriques respectifs des composés, dans les deux échantillons.

#### *Esters*

Les concentrations en esters sont pour la plupart plus élevées dans la bouteille N que dans la bouteille PROCORK. Les esters peuvent contribuer positivement à l'arôme d'un vin en apportant, à faible concentration, un caractère fruité ou floral. Cependant, présents à trop fortes concentrations, ils peuvent contribuer à masquer la complexité aromatique du vin. Les fortes concentrations en esters peuvent donc impacter négativement le vin.

Des ethyl esters et des esters d'acétate ont été identifiés dans les deux échantillons. Les concentrations des esters suivants sont supérieures à leur seuil olfactif théorique : Ethyl acétate, Ethylpropanoate, Methylethylpropanoate, Isobutyl acétate, Ethylbutanoate, Methylethylbutanoate and 3-méthyl-butylacetate, 2-méthyl-butylacetate, Ethyloctanoate.

L'éthyl acétate, un marqueur d'oxydation du vin, a été détecté dans les deux échantillons. Cependant sa concentration est supérieure dans la bouteille N (8 503,1  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) par rapport à la bouteille PROCORK (8 425,5  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ). A faible concentration ce composé peut apporter des

notes douces et fruitées alors qu'à concentration élevée, il est associé à des notes de type dissolvant.

#### Composés aromatiques

Les concentrations en composés aromatiques (éthylbenzène, p-xylène, 1,3-diméthylbenzène) sont 3 à 5 fois supérieures dans la bouteille PROCORK comparé à la bouteille N.

#### Composés soufrés et aminés

L'une des différences majeures entre les échantillons est liée à la présence de composés aminés et soufrés dans la bouteille bouchée avec liège naturel (N) uniquement. En effet, des amines biogènes (cyclobutylamine 40,9 µg/m<sup>3</sup>, méthylamine 1,7µg/m<sup>3</sup>) et des composés soufrés volatils (3-méthylthiophène (23,1µg/m<sup>3</sup> and diéthyl disulfide 17,3 µg/m<sup>3</sup>) ont été identifiés uniquement dans l'échantillon N.

Ces types de composés apportent généralement des notes désagréables au vin : la méthylamine est connue pour apporter des notes de type âcres/poisson pourri/ammoniac ; le 3-méthylthiophène apporte des notes grasses/vineuses ; le diéthyl disulfide est responsable de notes oignon/gomme brûlée.

### 4.2.2 Analyse des marqueurs Brett

Les éthyl phénols peuvent avoir un effet négatif sur le vin lorsqu'ils sont présents en concentrations excessives. Ils apportent alors des notes indésirables de type animal/selle de cheval/bassecour/crotte de souris. Ils sont associés à la présence de la levure *Brettanomyces*. Pour confirmer si le caractère « Brett » mentionné par le Master of Wine dans la bouteille fermée avec du liège naturel, est lié à la présence d'éthyl phénols, des analyses moléculaires ciblées ont été réalisées sur le vin (injection liquide directe) des deux bouteilles.

Le tableau ci-dessous présente les résultats des analyses moléculaires ciblées réalisées pour identifier les marqueurs Brett communs.

Composé	CAS No.	Concentration (ug/m <sup>3</sup> )		OTV disponible?
		N bottle	PROCORK bottle	
4-Ethylphenol	123-07-9	-	-	non
4-Ethylguaïacol	2785-89-9	-	-	non
4-Ethylcatechol	1124-39-6	-	-	non

Les concentrations en gras et en rouge sont supérieures au seuil olfactif théorique

Ces résultats indiquent qu'aucun des trois marqueurs Brett ciblés (4-Ethylphénol (4-EP), 4-Ethylguaïacol (4-EG) and 4-Ethylcatechol (4-EC)) n'ont été identifiés, ni dans l'échantillon N, ni dans l'échantillon PROCORK.

Le caractère animal/souris décrit pourrait donc davantage être lié à la présence des composés soufrés et aminés mentionnés ci-dessus.

### 4.2.3 Interprétation des résultats

Les deux bouteilles présentent des profils en composés organiques volatils différents. Cela résulte probablement de processus d'évolution différents au sein des deux bouteilles. La bouteille N qui a un OTR 1,9 fois supérieur à celui de la bouteille PROCORK présente des concentrations en esters, aldéhydes, composés soufrés et aminés supérieures. Il est possible que ces deux dernières catégories de composés aient été générés par une activité microbiologique activée par un apport supérieur en oxygène. La bouteille PROCORK, avec un apport moindre en oxygène, contient des quantités plus importantes d'alcools complexes et de composés aromatiques ainsi que de moindres quantités d'esters et d'aldéhydes.

Pour rappel le Master of Wine Peter SCUDAMORE-SMITH a écrit en 2009 les notes suivantes concernant ces deux bouteilles de Château Teyssier 2008 :

« 2008 Bordeaux/ natural cork: aged, flat, bretty, palate extracted, dried out, past any drinking window, Brett more obvious.

2008 Bordeaux/ ProCork: fresher and brighter nose, molasses fruit/oak development, more fruit volume, sweeter palate.

COMPARISON...The oxidative regime of natural cork has emphasized brett, lessened freshness, accelerated ageing and palate dryness, now a poor wine; ProCork has held nose freshness and muted the brett, allowed ageing without oxidation, kept the wine fresh and the palate able to display aged fruit/tannin complexity.”

Une corrélation possible entre ces résultats analytiques et la description sensorielle établie par le Master of Wine peut être proposée :

- Les descriptions “sweeter palate” et “more fruit volume” associées à la bouteille PROCORK pourraient être liées la présence de quantités plus importantes d'alcool de « fusel »,
- Les aspects “molasses fruit/oak development” et “aged fruit/tannin complexity” de la bouteille PROCORK seraient liés à la présence de composés aromatiques en plus grande quantité,
- Le caractère “fresher and brighter nose” décrit pourrait être lié à de plus faibles quantités d'aldéhydes dans la bouteille PROCORK. Les aldéhydes sont en effet généralement connus pour rendre le vin plus « plat » et « moins fruité ».,
- Le caractère « Brett » de la bouteille fermée par un bouchon en liège naturel pourrait être associé à la présence des composés soufrés et aminés identifiés. Les analyses moléculaires réalisées par injection liquide directe du vin ont confirmé l'absence des marqueurs 4-EP, 4-EC and 4-EG. Le caractère animal/selle de cheval/bassecour/crotte de souris de la bouteille N ne serait alors pas lié à la présence de Brettanomyces. Il est en effet connu que de telles notes indésirables peuvent être liées à la présence de composés aminés produits par des bactéries lactiques de type lactobacilles par exemple.

## 5 Conclusion

Le taux de transfert d'oxygène (OTR) de deux bouteilles du même vin (un Saint Emilion Grand cru Château Teyssier 2008), l'une fermée par un bouchon en liège naturel, l'autre par un bouchon Procork, a été estimé grâce à une technique innovante. Les valeurs obtenues confirment que la bouteille Procork à un OTR plus faible (1,9 fois inférieur) que la bouteille fermée par du liège naturel.

Des analyses moléculaires de type GC-TofMS ont été réalisées (par extraction de l'espace de tête des bouteilles d'un part et par injection liquide directe d'autre part). L'objectif de ces analyses était de comparer la composition en composés organiques volatiles des deux vins et de voir si des corrélations pouvaient être établies avec le profil sensoriel des vins décrit par le Master of Wine Peter Scudamore-Smith. Après dégustation des deux vins ce dernier a déclaré : « "The oxidative regime of natural cork has emphasized Brett, lessened freshness, accelerated ageing and palate dryness, now a poor wine; ProCork has held nose freshness and muted the Brett, allowed ageing without oxidation, kept the wine fresh and the palate able to display aged fruit/tannin complexity." Une tentative de corrélation a été proposée.

Les analyses réalisées par extraction de l'espace de tête ont montré qu'aucun composé chimique n'est relargué de la membrane vers le vin. Cela confirme donc la neutralité organoleptique de la membrane Procork vis-à-vis de ce vin, même après onze ans de stockage. Cette étude a également mis en évidence le profil chimique différent des deux bouteilles. Cette différence pourrait être liée à un apport en oxygène plus important pour la bouteille en liège naturel comme démontré par les mesures d'OTR. Cet apport supérieur en oxygène pourrait favoriser des processus d'oxydation mais également activer des bactéries et levures présentes dans le vin. Ces processus microbiologiques pourraient conduire à la formation de composés aminés et soufrés, potentiellement responsables des notes animal/souris décrites par le mot « Brett » par le Master of Wine.

CONFIDENTIEL

## Annexe 1 : Résultats détaillés des analyses GC-TofMS

Compound	CAS No.	Concentration (ug/m3)		OTV disponible?
		N bottle	PROCORK bottle	
<b>Alcohols</b>				
2-Propanol, 2-methyl-	75-65-0	0,0	9,2	oui
1-Propanol	71-23-8	1 543,6	1 118,4	oui
2-Buten-1-ol, 3-methyl-	556-82-1	2,7	2,5	non
1-Propanol, 2-methyl-	78-83-1	5 327,2	5 525,3	oui
1-Butanol	71-36-3	113,5	124,3	oui
1-Butanol, 3-methyl-	123-51-3	7 279,2	9 818,0	oui
1-Butanol, 2-methyl-	137-32-6	3 656,2	3 787,8	oui
3-Pentyn-1-ol	10229-10-4	51,5	7,9	non
1-Pentanol	71-41-0	0,0	0,9	oui
1-Pentanol, 4-methyl-	626-89-1	4,8	4,7	non
1-Hexanol	111-27-3	124,6	125,9	oui
Phenylethyl Alcohol	60-12-8	0,0	52,5	non
Total Alcohols		18103,3	20577,3	
<b>Aldehydes</b>				
Propanal, 2-methyl-	78-84-2	66,1	18,5	oui
Methacrolein	78-85-3	172,1	76,3	oui
Butanal, 3-methyl-	590-86-3	1 005,6	602,5	oui
Butanal, 2-methyl-	96-17-3	48,5	5,5	non
2-Butenal, 2-methyl-, (E)-	497-03-0	79,6	33,0	non
2-Butenal, 3-methyl-	107-86-8	7,5	4,5	non
Total Aldehydes		1379,4	740,3	
<b>Aliphatic Hydrocarbons</b>				
Pentane, 3-ethyl-	617-78-7	1,0	1,0	oui
Hexadecane	544-76-3	28,9	14,0	oui
Total Aliphatic Hydrocarbons		29,8	15,0	
<b>Amines</b>				
Cyclobutylamine	2516-34-9	40,9	0,0	non
Methylamine	74-89-5	1,7	0,0	oui
Total Amines		42,6	0,0	
<b>Aromatic Alcohol</b>				
Phenol	108-95-2	0,0	8,5	oui
Total Aromatic Alcohol		0,0	8,5	
<b>Aromatic compounds</b>				
Ethylbenzene	100-41-4	1,9	11,0	oui
p-Xylene	106-42-3	4,3	12,5	oui
Benzene, 1,3-dimethyl-	108-38-3	1,2	3,8	oui
Total Aromatic compounds		7,4	27,3	
<b>Esters</b>				
Acetic acid, methyl ester	79-20-9	158,1	124,7	oui
Ethyl Acetate	141-78-6	8 503,1	8 425,5	oui
Propanoic acid, ethyl ester	105-37-3	168,5	152,0	oui
n-Propyl acetate	109-60-4	110,0	15,0	oui
Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	97-62-1	397,4	291,9	oui
Isobutyl acetate	110-19-0	1 041,4	83,1	oui
Diethyl carbonate	105-58-8	0,0	2,3	non
2-Propen-1-ol, 2-methyl-, acetate	820-71-3	0,0	4,3	non
1-Butanol, 3-methyl-, formate	110-45-2	0,7	8,6	non
Butanoic acid, ethyl ester	105-54-4	191,0	146,1	oui
Acetic acid, butyl ester	123-86-4	19,6	0,0	oui
Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester, (S)-	687-47-8	934,0	900,5	non
Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	7452-79-1	66,7	43,9	non
Butanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester	108-64-5	133,8	94,3	oui
Propanoic acid, 2-methylpropyl ester	540-42-1	1,1	0,0	oui
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	123-92-2	1 692,9	312,1	oui
1-Butanol, 2-methyl-, acetate	624-41-9	1 228,1	62,0	oui
Hexanoic acid, ethyl ester	123-66-0	502,5	382,3	non
Octanoic acid, ethyl ester	106-32-1	169,2	226,1	oui
Butanedioic acid, diethyl ester	123-25-1	107,8	188,5	non
Decanoic acid, ethyl ester	110-38-3	0,0	32,1	oui

1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	84-69-5	91,6	11,4	non
<b>Total Esters</b>		<b>15517,7</b>	<b>11506,6</b>	
<b>Ethers</b>				
Oxetane, 3-(1-methylethyl)-	10317-17-6	2,6	0,0	non
1,3-Dioxolane	646-06-0	0,9	0,0	oui
1,3-Dioxolane, 2,4,5-trimethyl-	3299-32-9	34,6	39,5	non
Pentane, 1-ethoxy-	17952-11-3	8,3	10,1	non
Propane, 2-ethoxy-	625-54-7	22,9	22,9	non
<b>Total Ethers</b>		<b>69,2</b>	<b>72,5</b>	
<b>Furans</b>				
Furan, 2-methyl-	534-22-5	9,5	14,4	non
Furan, tetrahydro-3-methyl-	13423-15-9	12,1	31,3	non
Furan, 2,2'-[oxybis(methylene)]bis-	4437-22-3	47,6	44,1	non
<b>Total Furans</b>		<b>69,2</b>	<b>89,8</b>	
<b>Ketones</b>				
2-Butanone, 3-methyl-	563-80-4	2,0	1,7	oui
2-Butanone	78-93-3	0,0	1,6	oui
<b>Total Ketones</b>		<b>2,0</b>	<b>3,2</b>	
<b>Oxygen-containing compounds</b>				
Propanoic acid, 2-oxo-, ethyl ester	617-35-6	15,2	25,4	non
(+)-Dibenzoyl-L-tartaric acid anhydride	64339-95-3	0,0	20,9	non
Ethanone, 2-(formyloxy)-1-phenyl-	55153-12-3	0,0	12,4	non
<b>Total Oxygen-containing compounds</b>		<b>15,2</b>	<b>58,7</b>	
<b>Sulfur-containing compounds</b>				
Thiophene, 3-methyl-	616-44-4	23,1	0,0	non
Diethyl disulfide	110-81-6	17,3	0,0	oui
<b>Total Sulfur-containing compounds</b>		<b>40,4</b>	<b>0,0</b>	
<b>Terpenes</b>				
1,3-Cyclopentadiene, 5-(1-methylethylidene)-	2175-91-9	0,0	6,0	non
<b>Total Terpenes</b>		<b>0,0</b>	<b>6,0</b>	
<b>Total COV</b>		<b>35276,3</b>	<b>33105,4</b>	

(\* ) La concentration de ce composé n'a pas pu être déterminée avec précision

Les concentrations en gras et en rouge sont supérieures au seuil olfactif théorique

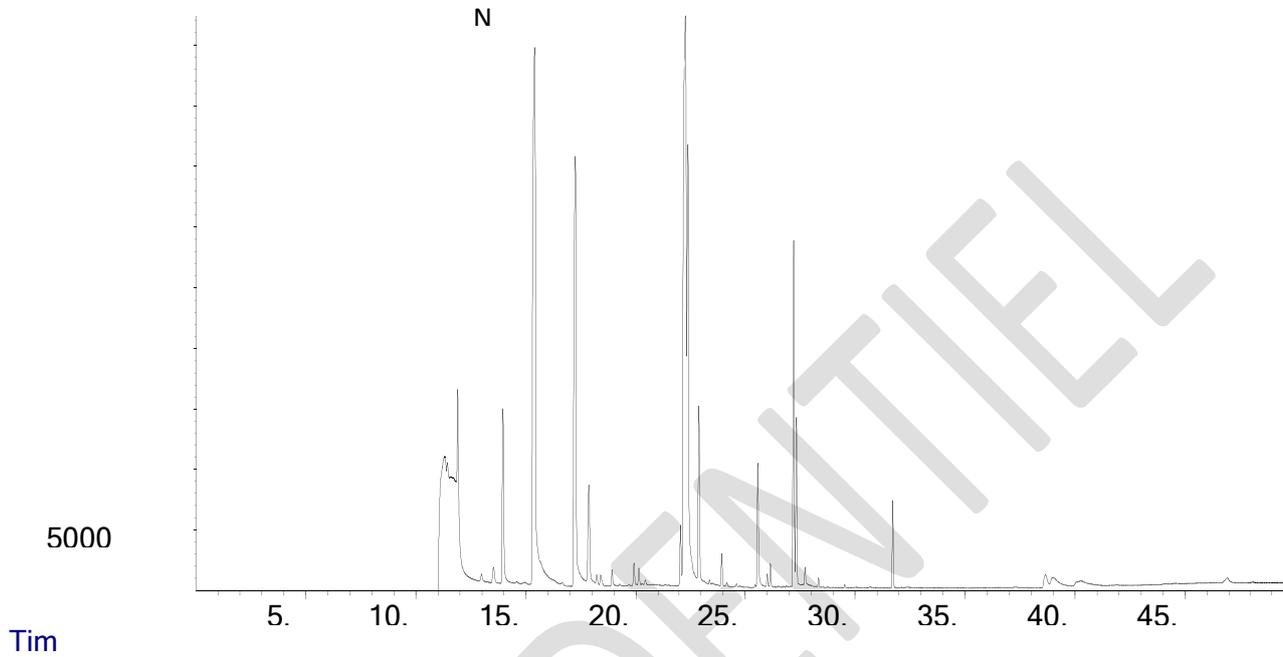
Les concentrations en vert n'excèdent pas 0.1 µg/m<sup>3</sup>

CODE COULEUR :

	<1 x le seuil olfactif théorique
	1-10 x le seuil olfactif théorique
	10-50 x le seuil olfactif théorique
	50-100 x le seuil olfactif théorique
	100-1000 x le seuil olfactif théorique
	>1000 x le seuil olfactif théorique

## Annexe 2: Chromatogrammes

Abund



Abundance

