Composition et origine du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux. Influences du terroir dans l'expression aromatique des vins vieux.

Justine Laboyrie

▶ **To cite this version:**

Justine Laboyrie. Composition et origine du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux. Influences du terroir dans l'expression aromatique des vins vieux.. Médecine humaine et pathologie. Université de Bordeaux, 2020. Français. NNT : 2020BORD0228 . tel-03213152

HAL Id: tel-03213152

https://theses.hal.science/tel-03213152

Submitted on 30 Apr 2021

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.

université de BORDEAUX

THÈSE PRÉSENTÉE POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

SPÉCIALITÉ ŒNOLOGIE

Par

Justine LABOYRIE

Née le 17 février 1994 à Arcachon (33)

COMPOSITION ET ORIGINE DU BOUQUET DE VIEILLISSEMENT DES VINS ROUGES DE BORDEAUX.

Influences du terroir dans l'expression aromatique des vins vieux.

Sous la direction du Dr. Stéphanie MARCHAND

Soutenue le 4 décembre 2020

Membres du jury

M. C. Van LEEUWEN, Professeur, Bordeaux Sciences Agro	Président
M. A.C. SILVA FERREIRA, Professeur, Universidade Católica Portuguesa	Rapporteur
M. V. FARINES, Maître de conférences, Université de Montpellier	Rapporteur
Mme M. NIKOLANTONAKI, Maître de conférences, Université de Bourgogne	Examinateur
M. M. UGLIANO Professeur, Università degli Studi di Verona	Examinateur
Mme S. GARBAY, Maître de Chai, Château d'Yquem	Membre Invité
M. R. SCHNEIDER, Chargé de Recherches, Société Oenobrands	Membre Invité
Mme S. MARCHAND, Maître de conférences, Université de Bordeaux	Directrice de thèse

VERSION DE DIFFUSION

Cette thèse intitulée « *Composition et origine du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux. Influences du terroir dans l'expression aromatique des vins vieux* » a été soumise à un contrat de confidentialité. La version originale présentée et défendue le 04 décembre 2020 ne peut pas être diffusée.

Cependant, ce manuscrit est une version de diffusion de la thèse dont les figures, tableaux, résultats et discussions des chapitres soumis à la confidentialité ont été supprimés. Les mentions **[…] – diffusion non autorisée** indiquent ces éléments supprimés.

« Le grand vin a la complexité d'une œuvre d'art. Il évoque beaucoup à qui sait le comprendre. »

Emile Peynaud, Le vin et les jours

A ma famille,
pour leur amour et leur précieux soutien.
A toi papi,
dont le départ a marqué le début de cette thèse.

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Stéphanie Marchand, Maître de Conférences à l'Université de Bordeaux, de m'avoir donné l'opportunité de travailler sur ce sujet de recherche passionnant. Je la remercie de la confiance qu'elle m'a accordée durant ces trois années et de m'avoir guidé tout en me laissant l'indépendance nécessaire afin que je puisse donner le meilleur de moi-même dans ce travail. Son écoute, ses conseils, ses encouragements, son expérience et sa passion pour l'œnologie et le vieillissement des vins ont été des éléments précieux dans l'accomplissement de cette thèse. J'ai réellement pris du plaisir à travailler sur ce sujet avec elle. Qu'elle soit assurée de mon entière reconnaissance.

Je remercie Monsieur Cornelis Van Leeuwen, Professeur à Bordeaux Sciences Agro, qui m'a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Son expertise dans le domaine agronomique et des terroirs bordelais s'est avérée très enrichissante. Je lui exprime ma plus grande gratitude.

Messieurs Vincent Farines, Maître de Conférences à l'Université de Montpellier et António César Silva Ferreira, Professeur à l'Universidade Católica Portuguesa (Portugal) m'ont fait l'honneur de juger ce travail en tant que rapporteurs. Je les remercie pour leurs rapports écrits, leur intérêt pour la thématique de recherche ainsi que leurs critiques constructives pour mener à bien la suite de ce projet de recherche. Qu'ils soient certains de ma profonde reconnaissance.

Madame Maria Nikolantonaki, Maître de Conférences à l'Université de Dijon et Monsieur Maurizio Ugliano, Professeur à l'Universitá degli Studi di Verona (Italie) ont participé à ce jury de thèse en tant qu'examinateurs. Les discussions et les réflexions menées ensemble lors de la soutenance ont été très intéressantes pour conclure cette thèse et pour la poursuite de ce sujet de recherche. Je leur exprime mes plus sincères remerciements.

Madame Sandrine Garbay, Maître de chai au Château d'Yquem et Monsieur Rémi Schneider, Chargé de recherches chez Oenobrands m'ont fait l'honneur de participer à ce jury de thèse. Leur expertise en œnologie, leur bienveillance et leur regard avisé de femme et d'homme de terrain ont apporté un plus grand intérêt encore à l'évaluation de ce travail. Je les en remercie vivement.

Ce travail de recherche a été réalisé grâce au soutien des partenaires du projet. Je les remercie pour les nombreux échantillons, leur disponibilité et leur écoute.

Je tiens à remercier une nouvelle fois le Professeur Ugliano ainsi que le docteur Davide Slaghenaufi, Giovanni Luzzini et Eduardo Vela pour leur accueil chaleureux dans leur laboratoire du département de biotechnologie de l'Université de Vérone. Je n'oublierai pas leur gentillesse et leur dévouement qui ont fait que ces deux semaines italiennes ont été très enrichissantes et déterminantes dans l'avancée de ce travail de recherche. Je salue également la sympathie de leurs collègues lors des pauses repas.

Un grand merci à Marina Bely, Maître de Conférences à l'Université de Bordeaux, de m'avoir formée aux techniques de microbiologie et m'avoir accompagnée dans cette partie « fermentations » fascinante. Je remercie également sa post-doctorante, Laura Chasseriaud de m'avoir aidée au laboratoire lorsque j'en avais besoin.
Un grand merci également à Michael Jourdes, Maître de Conférences à l'Université de Bordeaux, pour le don de tanins semi-purifiés, son accompagnement lors des analyses des tanins totaux, son écoute et ses conseils.

Je remercie le réseau maturité de l'ISVV d'avoir gentiment accepté de me donner des échantillons de leur campagne de prélèvements 2019. Mes remerciements vont aussi au Professeur Laurence Gény pour écoute, ses conseils et pour m'avoir proposé d'utiliser divers moûts du réseau maturité. Merci également à Audrey Barsacq de s'être démenée pour retrouver ces échantillons. Ces moûts ont été précieux pour mes recherches.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Céline Franc, Ingénieur de recherche à l'Unité de recherche Œnologie et Maria Tiziana Lisanti, Chercheur à l'Université de Naples, pour le travail réalisé lors du développement d'une méthode de dosage. L'expertise de Céline et Tiziana ont permis de mener un fabuleux travail collaboratif. Les « minty girls » sont fières du travail accompli.

Mes remerciements s'adressent aussi aux membres du laboratoire avec qui j'ai pu réaliser ces trois fabuleuses années :
Nicolas le Menn, un immense merci pour ton aide précieuse tout au long de ces trois années. Sans ton soutien et ton aide, cette thèse n'aurait pas eu le même succès. Nos diverses discussions m'ont beaucoup appris et je t'en suis très reconnaissante.
Laurent Riquier, merci pour toute l'aide technique quotidienne, ton écoute et tes conseils. Je te suis très reconnaissante de m'avoir formée aux manips du labo et de m'avoir montré comment et combien il fallait prendre soin de nos GC-MS...
Céline Franc, merci une fois encore d'avoir partagé ton expertise concernant les techniques analytiques. Merci pour ta gentillesse et tes nombreux encouragements.
Sophie Tempere, je te remercie pour les conseils avisés concernant la partie sensorielle de cette thèse et la préparation de mes oraux. Je n'oublierai jamais nos discussions réconfortantes à la paillasse, tes nombreux encouragements, ta bienveillance et ta gentillesse.
Edouard Pelonnier-Magimel, merci de l'aide que tu m'as apporté lors des dégustations, lors de l'échantillonnage de dizaines et de dizaines de flacons et de ta patience lorsqu'il t'as fallu m'expliquer les scripts R et régler tous les bugs…
Georgia Lytra et Margaux Cameleyre, je n'oublierai jamais votre sourire et votre bonne humeur quotidienne. Un grand merci à toutes les deux pour votre gentillesse durant ces 3 années et pour votre super coaching tout au long de la thèse.
Enfin, Gilles de Revel, je souhaite vous remercier pour vos nombreux encouragements tout au long de ma thèse et en particulier pendant la rédaction et la préparation de mon oral. Je vous en suis très reconnaissante.

Morgane Jouan et Sera Goto ont choisi d'effectuer leur stage de fin d'étude de Master sur ce sujet de recherche. Je les remercie pour leur investissement et leur motivation. Nos échanges m'ont beaucoup apporté et je leur en suis reconnaissante.

Je n'oublie pas les dégustateurs et les remercie pour le temps accordé aux études sensorielles concernant le DMS.

Merci au Professeur Rémi Ghidossi d'avoir pris le temps de me faire bénéficier de son expertise concernant les bouchons et les transferts d'oxygène. Merci également à Marguerite Dols, ma marraine de l'UR oeno pour tous ses conseils et à Amélie Rabot pour son encouragement pendant ces trois années.
Je remercie le plateau de nanovinifications de l'ISVV, particulièrement Soizic Lacampagne et Sandra Vanbrabant pour leur accompagnement lors des microvinifications.

Je souhaite remercier sincèrement Lebna Mizani, responsable administrative de l'UR œnologie, pour la gestion de nos conventions et surtout sa disponibilité et sa gentillesse hors pair. Merci également à Julie Cousinet et Céline Goutteux qui ont toujours répondu favorablement à mes demandes.
J'adresse également mes remerciements à l'ensemble du personnel administratif de l'ISVV, tout particulièrement à Judith, Patrick, Manu et Geoffrey.

J'ai une pensée pour l'équipe de rédaction de la newsletter de l'UR Oeno (Céline C., Lebna, Marion B., Charlotte G., Sara). Merci pour ces moments de retrouvailles en salle des « poufs » qui furent très sympathiques.

Mes remerciements s'adressent aussi aux personnes qui ont partagé mon quotidien de thésarde et rendu ces trois années plus agréables.

Amel, Sara et Margot, mes camarades de thèse, colocataires de bureau et voisines de laboratoire, merci pour votre présence au quotidien et vos encouragements. Les journées étaient plus légères en votre présence. On se souviendra de ces 3 années et je suis fière de nous !

Delphine, Adeline, Mathilde, mes copines chimistes, merci pour votre soutien infaillible, votre amitié et pour ces beaux moments passés au labo et en dehors.

Marine, merci pour cette moitié de thèse passée à tes côtés et pour les beaux souvenirs de Corfou. Une superbe amitié est née !

Fannie, Alicia, les Pauline, Philippine, Pascaline, Clément, les Marie, Inès, Etienne, Reyes, Ruth, Emilie, Gauthier merci pour vos sourires et votre gentillesse. Nos échanges aux quatre coins de l'unité étaient toujours agréables et les moments en dehors du labo furent d'excellents moments de plaisir.

Pierre, Jules, Paul, Maïtena, Charlotte, les microbiologistes qui m'ont adopté. Merci pour votre humour et pour les bons moments passés en dehors du labo (avec un verre à la main) !

Enfin je pense à la team JDD (Sara, Margot B., Toni) avec qui nous avons passé de très bons moments lors de l'organisation de l'évènement, merci à vous !

Une pensée aussi à tous les membres de l'UR oeno que je n'ai pas pu citer dans ces lignes mais qui ont contribué à mon épanouissement professionnel et personnel.

Merci à tous mes amis, que ce soit mes amis Montois (Sarah, Léa, Maëva, Chloé, Mathilde S., Mathilde D., Alexia, Estelle, Julia mais aussi Camille, Thomas, Clément, Julien), Toulousains (Marion, Jade, Melen, Clémence, Andréa, Axel, Adrien, Frx, Thomas, Mimi…), ceux rencontrés grâce au vin (Marie M., Marion, Lucie, Loïc, Baptiste, Michele, Clément, Marie D…). Un énorme merci à tous de m'avoir soutenue, fait rire, sortir et permis de décompresser pendant ces instants.

Je souhaite terminer ces remerciements en exprimant toute ma reconnaissance à mes parents, beaux-parents et mes grands-parents qui m'ont toujours soutenue et qui ont toujours cru en moi. Je leur dois ma réussite et je suis fière qu'ils aient pu la partager avec moi (même à distance).

Je tiens également à remercier ma belle-famille pour leur gentillesse et l'intérêt porté à mon travail. Même à plus de 600 km, leur soutien m'a beaucoup touché.

Enfin, merci Ivan pour tout. Ces trois années n'auraient jamais été aussi belles sans ta présence, ton soutien permanent et ton réconfort.

PUBLICATION DANS LES REVUES SCIENTIFIQUES À COMITÉ DE LECTURE

Lisanti, M.T., **Laboyrie, J.**, Marchand-Marion, S., de Revel, G., Moio, L., Riquier, L., and Franc, C. (2021). Minty aroma compounds in red wine: development of a novel automated HS-SPME-Arrow and gas chromatography-tandem mass spectrometry quantification method. Food Chemistry accepté.

COMMUNICATIONS AU COURS DE CONGRÈS INTERNATIONAUX

Communications orales

Laboyrie J., Le Menn N., Jourdes M., Bely M., Riquier L., Jouan M., de Revel G., Marchand S. Dimethyl sulphide : a primordial compound from grapes to glasses. International Conference WAC - mars 2020, Dijon (France), reporté au 07-09 juillet 2021.

Lisanti M.T., **Laboyrie J.**, Franc C., Luzzini G., Slaghenaufi D., Ugliano M., Moio L., de Revel G., Marchand S. The limonene-derived mint aroma compounds in red wines. Recent advances on analytical, chemical aspects and aspects. OenoIVAS (Bordeaux), 25-28 juin 2019.

Communication affichées

Laboyrie J., Jouan M., Le Menn N., Riquier L. de Revel G., Marchand S. The multiples chemical forms of dimethylsulfide. A possible contribution to the polymorphism of fine aged wines during tasting. OenoIVAS (Bordeaux), 25-28 juin 2019. *Gagnant du 2ème prix jeunes chercheurs.*

Laboyrie J., Lisanti M.T., Marchand S, de Revel G., Moio L., Franc C. Mint aroma compounds in red wine : determination by a new and simple method based on automated HS-SPME-Arrow and Gas Chromatography-tandem Mass Spectrometry analysis. OenoIVAS (Bordeaux), 25-28 juin 2019.

Franc C., **Laboyrie J.**, Lisanti M.T., Marchand S., Picard M., de Revel G., Bressanello D., Riccardino G., Bergna M., Cavagnino D., Garcia C. New opportunities for wine analysis through SPME Arrow and GC-MS/MS. Pittcon conference, Philadelphia PA (USA), 17-21 mars 2019.

AUTRES COMMUNICATION ORALES

Laboyrie J. Ma thèse en 180 secondes : Étude de l'origine du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux. Influence du terroir et du millésime. Journée Transfert Oeno Innovin (ISVV), Bordeaux (France), 19 décembre 2019.

Laboyrie J. Étude de l'origine des marqueurs du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux. Influence du terroir et du millésime. Journée des doctorants (JDD), 4ème édition (ISVV), Bordeaux (France), 12 novembre 2019.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABREVIATIONS ..... **I**
LISTE DES TABLEAUX ..... **III**
LISTE DES FIGURES ..... **VI**
LISTE DES SCHÉMAS BILAN ..... **XIII**
INTRODUCTION GÉNÉRALE **1**

CONTEXTE ET OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

1. BORDEAUX : UNE IDENTITÉ VITI-VINICOLE UNIQUE **5**
1.1 Bordeaux et l'œnologie 5
1.2 La richesse du vignoble bordelais 6
1.2.1 Géographie et topographie 6
1.2.2 Climat 7
1.2.3 Encépagement et diversité de sols 7
1.3 Les particularités des vins de Bordeaux 9
1.3.1 La notion de « château viticole » et l'art de l'assemblage 9
1.3.2 Les notions de « terroir » et de « cru » 9
1.3.3 La hiérarchie des vins et le classement des crus 10
1.3.4 La notion de « millésime » 10
2. LES GRANDS CRUS : DES VINS ROUGES QUALITATIFS À HAUT POTENTIEL DE GARDE **11**
2.1 La composante aromatique comme gage de qualité des vins 11
2.1.1 La composante aromatique des vins 11
2.1.2 La qualité des vins 12
2.2 Quelques clefs de la réussite d'un grand vin 12
2.2.1 La récolte d'un raisin de qualité 12
2.2.2 Les arômes présents dans le raisin 14
2.2.3 Le bon déroulement des fermentations 15
2.2.3.1 La fermentation alcoolique 15
2.2.3.2 La fermentation malolactique 16
2.2.4 Les arômes présents dans le vin jeune 17
2.2.5 L'élevage des vins en barrique 18
2.3 Le vieillissement du vin : vers un état d'apogée… ou de déclin 19
2.3.1 Conditions et équilibre d'oxydo-réduction nécessaires pour l'évolution qualitative des vins 20
2.3.2 Évolution de la composition du vin au cours du vieillissement 21
2.3.2.1 Conservation des composés aromatiques déjà présents 21
2.3.2.2 Formation de nouveaux composés et naissance du bouquet de vieillissement 21
2.3.3 L'estimation d'un potentiel de « garde » (ou de vieillissement) 22
3. OBJECTIFS DE L'ÉTUDE **23**

LE VIEILLISSEMENT QUALITATIF DES VINS

CHAPITRE 1. État de l'art : l'identification du vieillissement qualitatif des vins rouges 26

1. VIEILLISSEMENT QUALITATIF : CONCEPT SENSORIEL, TYPICITÉ ET EXPERTISE 26

1.1 Notion de qualité des vins 26

1.2 Typicité et concept sensoriel 27

1.2.1 Typicité 27

1.2.2 Concepts sensoriels 28

1.2.3 Importance de l'expertise dans l'évaluation de la typicité des vins de qualité 28

2. LE BOUQUET DE VIEILLISSEMENT DES VINS ROUGES DE BORDEAUX 30

2.1 Observations empiriques et premiers travaux sur la typicité des vins rouges de Bordeaux 30

2.2 Concept sensoriel du bouquet de vieillissement 32

2.2.1 Définition conceptuelle 32

2.2.2 Définition aromatique 32

2.3 Aspects méthodologiques pour l'évaluation sensorielle du concept de bouquet de vieillissement 33

2.3.1 Évaluation de la typicité du bouquet de vieillissement 33

2.3.2 Description sensorielle quantitative 33

2.4 Molécules impliquées dans le bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux 34

2.4.1 Absence de défauts 34

2.4.2 Composés aromatiques issus du bois de chêne 36

2.4.2.1 Les lactones issues du bois de chêne 36

2.4.2.2 Les phénols et les aldéhydes phénoliques issus du bois de chêne 37

2.4.2.3 Les aldéhydes furaniques issues du bois de chêne 37

2.4.2.4 Variabilité, dynamique et effets perceptifs des composés du bois de chêne 37

2.4.3 Les composés terpéniques et C_{13}-norisoprénoïdes du raisin 39

2.4.3.1 Les monoterpènes et sesquiterpènes 39

2.4.3.2 Les composés terpéniques à odeur « menthée » 41

2.4.3.3 Les C_{13}-norisoprenoïdes 42

2.4.4 Les mégastigmatriènones (ou tabanones) 44

2.4.5 Les esters 45

2.4.5.1 Les esters éthyliques d'acides gras 46

2.4.5.2 Les acétates d'alcools supérieurs 48

2.4.5.3 Les esters éthyliques d'acides substitués 48

2.4.6 Le cyclotène et l'isophorone 50

2.4.7 Composés soufrés pouvant avoir un impact positif sur l'arôme des vins 51

2.5 Choix des méthodes et des molécules à quantifier dans les vieux vins 54

CHAPITRE 2. Expression sensorielle des vins rouges de Bordeaux âgés de 11 à 28 ans .55

1. INTRODUCTION 55
2. MATÉRIELS ET MÉTHODES 55
2.1 Vins étudiés 55
2.2 Panels de dégustateurs 56
2.3 Organisation et conditions de dégustation 56
2.3.1 Organisation 56
2.3.2 Préparation 58
2.3.3 Conditions des dégustations 58
2.4 Exercices de dégustation 58
2.4.1 Exercice 1 : tâche de typicité 58
2.4.2 Exercice 2 : profils sensoriels 59
2.5 Analyses statistiques 59
2.5.1 Analyse en composantes principales 59
2.5.2 Classification ascendante hiérarchique 60
2.5.3 Analyses paramétriques et non paramétriques 60
3. RÉSULTATS ET DISCUSSION 62
3.1 Évaluation de la typicité du bouquet de vieillissement 62
3.1.1 Degré de consensus entre les dégustateurs 62
3.1.2 Existence d'un gradient de typicité 65
3.2 Évaluation des caractéristiques sensorielles du bouquet de vieillissement des vins étudiés 67
3.2.1 Degrés de consensus entre les dégustateurs pour l'évaluation des intensités des descripteurs aromatiques 67
3.2.2 Identification des descripteurs aromatiques discriminants entre bons et mauvais exemples du bouquet de vieillissement 68
3.3 Profils sensoriels des vins et essais de discriminations (rives et crus) 71
4. CONCLUSIONS 72

CHAPITRE 3. Approche analytique ciblée pour l'étude de la composition aromatique des vieux vins rouges de Bordeaux 73

1. INTRODUCTION 73
2. MATÉRIELS ET MÉTHODES 74
2.1 Vins étudiés 74
2.2 Solvants et consommables 74
2.3 Méthodes de quantification par GC-MS 75
2.3.1 Défauts 75
2.3.1.1 Composés de référence 75
2.3.1.2 Extraction par SBSE 76
2.3.1.3 Analyse GC-MS 77
2.3.2 Composés volatils issus du bois de chêne 78
2.3.2.1 Composés de référence 78
2.3.2.2 Extraction liquide-liquide 78

2.3.2.3 Analyse GC-MS 79
2.3.3 Terpènes et C_{13}-norisoprénoïdes 80
2.3.3.1 Extraction HS-SPME 80
2.3.3.2 Analyse GC-MS 81
2.3.4 Composés à odeur « menthée » : développement d'une méthode de dosage par SPME-GC-MS/MS 81
2.3.4.1 Composés de référence 82
2.3.4.2 Extraction par HS-SPME-arrow 82
2.3.4.3 Analyse GC-MS/MS 83
2.3.5 Esters 83
2.3.5.1 Composés de référence 83
2.3.5.2 Extraction par HS-SPME 83
2.3.5.3 Analyse GC-MS 83
2.3.6 Cyclotène et isophorone 85
2.3.6.1 Composés de référence 85
2.3.6.2 Extraction par HS-SPME 86
2.3.6.3 Analyse GC-MS 86
2.3.7 Sulfure de diméthyle (DMS) 87
2.3.7.1 Composés de référence 87
2.3.7.2 Extraction par HS-SPME 87
2.3.7.3 Analyse par GC-MS 87
2.4 Analyses statistiques 88
3. RÉSULTATS ET DISCUSSION 89
3.1 Données quantitatives 89
3.1.1 Teneurs en composés odorants issus du bois de chêne 89
3.1.2 Teneurs en terpènes et C_{13}-norisoprénoïdes 91
3.1.2.1 Les terpènes 93
3.1.2.2 Les C_{13}-norisoprénoïdes et la tabanone 94
3.1.3 Les composés à odeur « menthée » 95
3.1.3.1 Développement d'une méthode de dosage 95
3.1.3.2 Les teneurs en composés à odeur « menthée » 99
3.1.4 Teneurs en esters 100
3.1.5 Teneurs en cyclotène et isophorone 102
3.1.6 Teneurs en DMS 103
3.1.7 Conclusion partielle sur les données quantitatives 104
3.2 Corrélations des teneurs en composés volatils avec les âges des vins 104
3.3 Composés aromatiques impliqués dans le bouquet de vieillissement 109
3.3.1 Composés liés à la typicité du bouquet de vieillissement 109
3.3.2 Composés responsables des odeurs du bouquet 111
3.4 Typologie de boisage 113
3.5 Typologies de terroirs 115
4. CONCLUSIONS 124
Conclusion générale partie 1 126

NAISSANCE ET CONSERVATION DES MOLÉCULES FAISANT PARTIE DU BOUQUET DE VIEILLISSEMENT : CONTRIBUTIONS DU TERROIR ET DU MILLÉSIME

CHAPITRE 1. État de l'art : l'effet du terroir sur les composés odorants des vins 129

1. INFLUENCE DU STATUT HYDRIQUE 129

1.1 Le statut hydrique 129

1.2 Mesure du statut hydrique 130

1.3 Influence du statut hydrique sur la phénologie de la vigne et la qualité des raisins 131

2. INFLUENCE DU STATUT AZOTÉ 132

2.1 Définition du statut azoté 132

2.2 Composition et mesure du statut azoté 133

2.3 Influence des paramètres viticoles sur le statut azoté des vignes et effet sur la qualité des baies 134

3. IMPACT DU TERROIR SUR LES COMPOSÉS VOLATILS 135

3.1 Les composés volatils en lien avec les paramètres du terroir 135

3.2 Le terroir bordelais 136

3.2.1 Sols, cépages et climat de Bordeaux 136

3.2.2 Impact des paramètres du terroir bordelais sur le bouquet de vieillissement 137

CHAPITRE 2. Effet des paramètres du terroir et des pratiques œnologiques sur les molécules du bouquet de vieillissement 139

1. INTRODUCTION 139

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES 140

2.1 Vins étudiés 140

2.2 Caractéristiques des crus de l'étude 140

2.3 Dosage du $\delta^{13}C$ dans l'éthanol 140

2.4 Quantification des composés volatils 143

2.5 Représentations et analyses statistiques 143

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION 143

3.1 Influence du millésime et de la contrainte hydrique 143

3.1.1 Caractérisation du statut hydrique des millésimes des crus étudiés 144

3.1.2 Influence du statut hydrique sur la typicité du bouquet de vieillissement 146

3.1.3 Influence du statut hydrique sur les molécules quantifiées dans les vieux vins 148

3.2 Influence des cépages dans l'expression du bouquet 149

4. CONCLUSIONS 151

CHAPITRE 3. Origine et libération au vieillissement de molécules à caractère olfactif particulier 153

1. INTRODUCTION 153

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES 154

2.1 Dosage du potentiel en DMS (pDMS) dans les vieux vins ... 154
2.1.1 Hydrolyse basique et analyse du pDMS ... 154
2.1.2 Quantification du potentiel en DMS dans les vieux vins ... 155
2.2 Libération des composés à odeur « menthée » dérivés du limonène ... 155
2.2.1 Produits chimiques et consommables ... 156
2.2.2 Matrices de travail ... 156
2.2.3 Libération enzymatique des composés menthés ... 156
2.2.4 Libération des composés menthés par hydrolyse acide ... 157
2.2.5 Quantification des composés à odeur « menthée » par SPME-GC-MS/MS ... 158
2.2.6 Analyses statistiques ... 158
3. RÉSULTATS ET DISCUSSION ... 158
3.1 Potentiel en DMS des vins vieux ... 158
3.2 Étude de l'origine des composés « menthés » : approche indirecte par essais de libération enzymatique et chimique ... 162
3.2.1 Contexte ... 162
3.2.2 Essai de libération enzymatique des précurseurs des terpènes à odeur « menthée » ... 164
3.2.3 Essai de libération chimique des précurseurs des terpènes à odeur « menthée » ... 168
3.2.4 Réflexions et perspectives sur l'étude de l'origine des molécules à odeur « menthée » ... 171
4. CONCLUSIONS ... 173
Conclusion générale partie 2 **... 174**

Troisième partie

LE SULFURE DE DIMÉTHYLE : MOLÉCULE CENTRALE DU VIEILLISSEMENT QUALITATIF DES VINS ROUGES DE BORDEAUX

CHAPITRE 1. État de l'art : le sulfure de diméthyle ... 177

1. CONTRIBUTIONS SENSORIELLE DU DMS À L'ARÔME DES VINS ... 177
2. ÉTUDE DE L'ORIGINE DU DMS ... 179
2.1 Précurseurs inodores du DMS et outils de prédiction du vieillissement ... 179
2.2 Influence des modes de conduite de la vigne sur les teneurs en pDMS ... 181
3. INFLUENCE DE LA VINIFICATION ET DU VIEILLISSEMENT SUR LES TENEURS EN DMS ... 182

CHAPITRE 2. Influence des zones du sous-espace bordelais et de la maturité du raisin sur les teneurs en pDMS ... 184

1. INTRODUCTION ... 184
2. MATÉRIELS ET MÉTHODES ... 185
2.1 Moûts étudiés ... 185
2.1.1 Moûts de raisins récoltés à maturité au cours des 5 dernières années ... 185
2.1.2 Prélèvements au cours de la période de maturation en 2019 ... 185
2.2 Dosage de l'azote assimilable ... 187

2.3 Dosage de l'ammonium et estimation par calcul de l'azote aminé 188
2.4 Estimation par le calcul de la teneur en azote α-aminé 189
2.5 Dosage du $\delta^{13}C$ sur moût 189
2.6 Dosage du potentiel en DMS dans les moûts 190
3. RÉSULTATS ET DISCUSSION 191
3.1 Évolution du pDMS au cours de la période de maturation pour le millésime 2019 191
3.2 Effet de l'azote et du statut hydrique sur les teneurs en pDMS à maturité lors des 5 derniers millésimes 197
3.3 Influence du millésime, des zones de production et des sols sur les teneurs en pDMS 202
3.3.1 Influences du millésime et des zones de production sur les teneurs en pDMS des jus 202
3.3.2 Influence des types de sol sur les teneurs en pDMS des jus 203
4. CONCLUSIONS 205

CHAPITRE 3. Influence du statut azoté des vignes par le biais des pratiques viticoles sur le potentiel en DMS 206

1. INTRODUCTION 206
2. MATÉRIELS ET MÉTHODES 207
2.1 Échantillonnage issu des expérimentations de terrain 207
2.1.1 Étude des types de sols 207
2.1.2 Étude de clones de merlot noir 207
2.1.3 Étude de l'effeuillage et de l'enherbement 208
2.1.4 Étude de l'effeuillage, de l'échardage et de la période de taille 209
2.2 Dosage de l'azote assimilable, de l'ammonium et des acides aminés libres (AAs) 210
2.3 Dosage du pDMS 213
3. RÉSULTATS ET DISCUSSION 213
3.1 Effets des types de sol sur le pDMS 213
3.1.1 Liens avec les indicateurs azotés 214
3.1.2 Effets des cépages, des sols et du millésime sur le pDMS 214
3.2 Étude de différents clones de merlot noir 215
3.2.1 Effet du clone sur les teneurs en pDMS 215
3.2.2 Lien avec les paramètres viticoles 217
3.3 Effet des pratiques viticoles 217
3.3.1 Essai effeuillage et enherbement 218
3.3.2 Essai effeuillage et échardage 219
4. CONCLUSIONS 221

CHAPITRE 4. Le devenir du potentiel en DMS au cours de la vinification 223

1. INTRODUCTION 223
2. MATÉRIELS ET MÉTHODES 224
2.1 Réactifs et consommables 224
2.2 Échantillons analysés 224
2.3 Microvinifications des raisins issus d'expérimentations viticoles 224
2.4 Études en milieu synthétique 227

2.4.1 *Essai 1* - nanovinifications avec des niveaux d'azote assimilable différents 228
2.4.2 *Essai 2* - nanovinifications avec des réajustements en natures d'azote différentes 231
2.4.3 Effet du bullage sous azote 233
2.5 Dosage du pDMS 234
3. RÉSULTATS 235
3.1 Vinifications avec et sans réajustement en azote 235
3.1.1 Vinification sans réajustement en azote assimilable 236
3.1.2 Vinification avec réajustement en azote assimilable 238
3.2 Fermentations en milieu synthétique 240
3.2.1 Effet du dégagement gazeux pendant la fermentation alcoolique sur le pDMS 240
3.2.2 Impact de différents niveaux d'azote assimilable sur le pDMS 241
3.2.3 Impact de la nature du réajustement en azote sur le pDMS 242
4. DISCUSSION, CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES 245

CHAPITRE 5. La libération du DMS au cours du processus de vieillissement du vin ... 248

1. INTRODUCTION 248
2. MATÉRIELS ET MÉTHODES 250
2.1 Dosage du DMS « libre » par SHS-GC-FPD 250
2.2 Étude de l'effet des composés phénoliques sur le DMS « libre » 251
2.2.1 Étude cinétique de la sorption du DMS en solution modèle « vin » 251
2.2.2 Étude du mode de sorption en solution modèle 253
2.2.3 Étude de la sorption du DMS dans des vins commerciaux 254
2.3 Étude sensorielle des odeurs du DMS 255
2.3.1 Comportement sensoriel du DMS dans l'eau 255
2.3.1.1 Préparation des échantillons et des solutions de références 255
2.3.1.2 Déroulement de la dégustation 256
2.3.2 Comportement sensoriel du DMS dans des vins rouges de merlot et de cabernet franc 257
2.3.2.1 Préparation des modalités 258
2.3.2.2 Déroulement de la dégustation 258
2.3.3 Comportement chimique et sensoriel du DMS dans un vin de syrah observé en fonction des modalités de service 259
3. RÉSULTATS ET DISCUSSION 260
3.1 Effet des composés phénoliques sur les teneurs en DMS libre 260
3.1.1 Évolution du DMS libre en présence de tanins 260
3.1.2 Étude du mode de sorption du DMS sur les tanins 262
3.1.3 Application au vin 265
3.2 Effets olfactifs du DMS 268
3.2.1 Comportement sensoriel du DMS dans l'eau 268
3.2.2 Comportement sensoriel du DMS dans le vin jeune 271
3.2.3 Mise en évidence d'un comportement chimique et sensoriel du DMS en fonction des modalités de service du vin 274
3.2.3.1 Analyses chimiques des trois modalités 275
3.2.3.2 Analyse sensorielle des trois modalités de service 276

4. CONCLUSIONS....278
Conclusion générale partie 3 **....280**

CONCLUSION GÉNÉRALE....283
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES....289
ANNEXES....342
PUBLICATION SCIENTIFIQUE....388

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AAs	Acides aminés libres
AAS	Acétate d'alcools supérieurs
ACP	Analyse en composantes principales
AFD	Analyse factorielle discriminante
ANOVA	Analyse de variance
AOC	Appellation d'origine contrôlée
AT	Acidité totale
CAH	Classification ascendante hiérarchique
CF	cabernet franc
CPG	Chromatographie phase gazeuse
CS	cabernet-sauvignon
d. i.	diamètre intérieur
DAP	Diammonium phosphate
DMS	Sulfure de diméthyle
DMSO	Diméthylsulfoxide
E	Est
e. f.	épaisseur du film
EEAG	Esters éthyliques d'acides gras
EEAS	Esters éthyliques d'acides substitués
EN	Norme Européenne
eV	électron volts
FA	Fermentation alcoolique
FLD	Détecteur à fluorescence
FML	Fermentation malolactique
FO	Fréquence d'occurrence
FP	Fréquence de partage
GC-MS	Gas chromatography and mass spectrometry (Chromatographie en phase gazeuse)
GC-O	Gas chromatography and olfactometry (chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie)
H_2SO_4	Acide sulfurique
HPLC	High performance liquid chromatography (Chromatographie en phase liquide à haute performance)
HS-SPME	Head space - solid phase microextraction
IRM-EA/MS	isotope ratio monitoring Elemental Analyzer Mass Spectrometry
ISO	Organisation internationale de normalisation
KOH	Hydroxyde de potassium
LOD	Limit of detection
LOQ	Limit of quantification
M	merlot
mgN	milligrammes d'azote
MgO	Oxyde de magnésium
MS	Milieu synthétique
NaOH	Hydroxyde de sodium
NF	Norme française

NH_3	Ammoniaque
Norme PDB	Norme Pee Dee Belemnite
O	Ouest
OIV	Organisation internationale de la vigne et du vin
pDMS	Potentiel en sulfure de diméthyle
PLS	Partial Least Squares
PTV	Entrée de température de vaporisation programmable
PV	petit verdot
rpm	rotations par minute
RT	Retention time
SBSE	Stir bar sorptive extraction
SHS-GC-FPD	Static head space - gas chromatography - Flame photometric detector
SIM	Select ion monitoring
SMM	*S*-méthylméthionine
SO_2	Dioxyde de soufre
SPME-GC-MS/MS	Solid phase microextraction - gas chromatography - tandem mass spectrometry
SRM	Selected reaction monitoring
T	Témoin
T°	Température
TDU	Unité de désorption thermique
TP	Taille précoce
tr/min	Tours par minute
TT	Taille tardive
WL	Whisky-lactone
[…]	**Paragraphes et phrases supprimés dans la version de diffusion**

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Caractéristiques sensorielles des différents composés volatils issus du bois de chêne et concentrations mesurées dans les vieux vins rouges de Bordeaux. 36

Tableau 2. Caractéristiques sensorielles des différents terpènes et concentrations mesurées dans les vieux vins rouges de Bordeaux 40

Tableau 3. Caractéristiques sensorielles du limonène et des terpènes à odeur « menthée » et concentrations mesurées dans les vieux vins rouges de Bordeaux 42

Tableau 4. Caractéristiques sensorielles des C_{13}-norisoprénoïdes et des isomères de la tabanone et concentrations mesurées dans les vieux vins rouges de Bordeaux. 44

Tableau 5. Caractéristiques sensorielles des principaux esters détectés dans les vins. 47

Tableau 6. Molécules choisies pour l'analyse de la composition des vieux vins rouges de Bordeaux. 53

Tableau 7. Caractéristiques (appellations, crus, millésimes et codes) des 80 vins rouges de Bordeaux étudiés. **Diffusion non autorisée.** 57

Tableau 8. Caractéristiques des panels de dégustation (D : numéro d'attribution au dégustateur, S : numéro de passage, Nb deg. : nombre de dégustateurs, % Femmes). En gris : participation du dégustateur à la séance. En blanc : pas de participation du dégustateur 57

Tableau 9. Synthèse des scores de consensus des dégustateurs concernant le jugement de typicité du bouquet de vieillissement pour chaque verticale dégustée. En rouge et gris, les juges ayant évalué la typicité avec moins de 25% de correspondance par rapport au consensus du panel. **Diffusion non autorisée.** 64

Tableau 10. Catégories de typicité et classement des vins à la suite de l'analyse CAH. **Diffusion non autorisée.** 66

Tableau 11. Synthèse des scores de consensus des dégustateurs concernant l'intensité des descripteurs du bouquet de vieillissement entre les membres des panels pour chaque « verticale » dégustée. En vert : le % de score de Sc. expliquant F1 > 40%. **Diffusion non autorisée.** 69

Tableau 12. Mesure du niveau d'intensité (note/10 : minimales ; maximales, moyenne ± écart-type des 3 descripteurs aromatiques consensuels). 70

Tableau 13. Intensité moyenne (± écart-type) des 3 descripteurs aromatiques en fonction des zones de production des vins et des crus. ns : non significatif. **Diffusion non autorisée.** 71

Tableau 14. Composés de référence utilisés pour le dosage des défauts. *Indique les étalons internes 76

Tableau 15. Conditions d'extraction et d'analyse pour le dosage des défauts. 77

Tableau 16. Composés de référence utilisés pour le dosage des composés volatils issus du bois de chêne. *Indique l'étalon interne 78

Tableau 17. Conditions d'extraction et d'analyse pour le dosage des composés volatils issus du bois de chêne 79

Tableau 18. Conditions d'extraction et d'analyse pour le dosage des terpènes et des C_{13}-norisoprénoïdes. 80
Tableau 19. Composés de référence utilisés pour le dosage du limonène et des composés à odeur "menthée". *Indique l'étalon interne 81
Tableau 20. Conditions d'extraction et d'analyse pour le dosage des composés à odeur "menthée". .. 82
Tableau 21. Composés de référence utilisés pour le dosage des 32 esters. *Indique les étalons internes 84
Tableau 22. Conditions d'extraction et d'analyse pour le dosage de 32 esters. 85
Tableau 23. Composés de référence utilisés pour les dosages du cyclotène et de l'isophorone. *Indique l'étalon interne 85
Tableau 24. Conditions d'extraction et d'analyse pour le dosage du cyclotène et de l'isophorone..... 86
Tableau 25. Composés de référence utilisés pour le dosage du sulfure de diméthyle. *Indique l'étalon interne..... 87
Tableau 26. Conditions d'extraction et d'analyse pour le dosage du sulfure de diméthyle. 88
Tableau 27. Chemical-physical properties, retention time (RT), SRM transitions, and collision energies of the studied compounds (in bold quantifier transitions) (Lisanti et al., 2021). 97
Tableau 28. Validation parameters (Calibration curves parameters, LOD and LOQ, repeatability and reproducibility) of the optimized SPME-Arrow-GC-MS/MS method (Lisanti et al., 2021). 98
Tableau 29. Analyte recoveries using the optimized method on a set of five red Bordeaux wines (*Range of experimental concentration of) (Lisanti et al., 2021). 98
Tableau 30. Corrélation (Spearman) entre les teneurs en composés volatils et les âges des vins (rives et crus confondus, *n*=80). 107
Tableau 31. Corrélations entre les teneurs des molécules et les descripteurs du bouquet de vieillissement pour les deux Châteaux étudiés. p-value en gras : * < 0,05 ; ** <0,01 ; *** <0,001. **Diffusion non autorisée.** 111
Tableau 32. Significativité de la différence des teneurs en composés volatils entre les vins des deux rives et visualisation de la rive la plus riche (RD : rive droite, RG : rive gauche). **Diffusion non autorisée.** 118
Tableau 33. Significativité de la différence des teneurs en composés volatils entre les crus au sein des rives. Les lettres de la comparaison par paire (Steel-Dwass-Critchlow-Fligner) indiquent les différences entre les crus. Lettre A rouge et grisée = composés caractérisant le cru. Lettre A grisée = composé caractérisant l'appellation. **Diffusion non autorisée.** 119
Tableau 34. Caractéristiques des vins de rive droite : crus, appellations, millésimes, assemblage, typologie générale des sols et codes. % M : % de merlot, % CF : % de cabernet franc, % CS : % de cabernet-sauvignon. **Diffusion non autorisée.** 141

Tableau 35. Caractéristiques des vins de rive gauche : crus, appellations, millésimes, assemblage, typologie générale des sols, codes. % M : % de merlot, % CF : % de cabernet franc, % CS : % de cabernet-sauvignon, % PV : % de petit verdot. **Diffusion non autorisée.** 142
Tableau 36. Corrélations significatives entre le $\delta^{13}C$ mesuré dans les vins et les composés volatils. **Diffusion non autorisée.** 147
Tableau 37. Plan expérimental et modalités employées pour la libération des composés à odeur "menthée" dans les vins jeunes. ø : absence ; incub : incubation. 157
Tableau 38. Disponibilité des échantillons issus du réseau maturité (www.bordeauxraisins.fr) de l'ISVV sur les 5 derniers millésimes (M = merlot, CS = cabernet-sauvignon). 186
Tableau 39. Calendrier de prélèvements pour le suivi de l'évolution du pDMS au cours de la maturation 2019 (*sauf St-Émilion B et Pessac-Léognan ; **sauf Médoc N). 186
Tableau 40. Corrélations entre le pDMS, le statut azoté et le statut hydrique des moûts de merlot et de cabernet-sauvignon issus des millésimes 2015 à 2019 sur l'ensemble du vignoble bordelais. *En gras : corrélations significatives avec * p-value <0,05 et ** p-value <0,01.* 198
Tableau 41. Modalités et dates de vendange de l'expérimentation des « sols » menée en 2018 et 2019. **Diffusion non autorisée.** 207
Tableau 42. Composés de référence et réactifs utilisés pour le dosage des acides aminés dans les moûts. * Indique l'étalon interne utilisé 211
Tableau 43. Conditions d'analyse et de dosage des 21 acides aminés par HPLC-FLD. 212
Tableau 44. Conditions d'injection et d'analyse pour le dosage du DMS par SHS-GC-FPD. 251
Tableau 45. Modalités étudiées et codes d'identification présentés lors de la dégustation pour l'étude du comportement sensoriel du DMS dans l'eau. 255
Tableau 46. Entraînement aux descripteurs du DMS. Images et références odorantes présentées aux dégustateurs. 257
Tableau 47. Modalités étudiées et codes d'identification présentés lors de la dégustation pour l'étude du comportement sensoriel du DMS dans le vin. 258

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Carte du vignoble bordelais. *(Source : https://www.bordeaux.com/fr)* Les différentes zones de production sont représentées en gris..... 7
Figure 2. Représentation mentale du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux selon Picard (2015). 31
Figure 3. Descripteurs aromatiques les plus fréquemment cités (FO > 5%) pour décrire le bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux (Picard (2015)). Le pourcentage suivi de * correspond au pourcentage de dégustateurs ayant cité chaque descripteur. 33
Figure 4. Structure chimique des 5 isomères de la tabanone (Slaghenaufi et al., 2014). 45
Figure 5. Structures chimiques du **(a)** cyclotène et de **(b)** l'α-isophorone. 51
Figure 6. (a) Cercles de corrélation de l'analyse en composantes principales (ACP) illustrant le consensus entre les dégustateurs professionnels pour chaque verticale dégustée et **(b)** la répartition des vins de chaque Château. **Diffusion non autorisée.** 61
Figure 7. (a) Classifications ascendantes hiérarchiques (CAH) des vins des Châteaux V, S, F et T en fonction de la note de typicité et **(b)** gradient de typicité des vins classés selon la CAH. **Diffusion non autorisée.** 65
Figure 8. Intensité moyenne des 3 descripteurs aromatiques en fonction des bons et mauvais exemples de vieillissement. 70
Figure 9. Dispersion des teneurs (en µg/L) des composés volatils issus du bois de chêne quantifiés dans les vins de chaque cru. 91
Figure 10. Dispersion des teneurs (en µg/L) des composés terpéniques et du salicylate de méthyle quantifiés dans les vins de chaque cru. 92
Figure 11. Dispersion des teneurs (en µg/L) des C_{13}-norisoprénoïdes quantifiés dans les vins de chaque cru. 95
Figure 12. Structures chimiques du limonène et des molécules à odeur « menthée » étudiées lors du développement de la méthode SPME arrow-GC-MS/MS. 96
Figure 13. Dispersion des teneurs (en ng/L) des composés à odeur "menthée" quantifiés dans les vins de chaque cru. 100
Figure 14. Dispersion des teneurs (en µg/L) des esters éthyliques d'acides substitués quantifiés dans les vins de chaque cru. 101
Figure 15. Dispersion des teneurs (µg/L) en cyclotène quantifiées dans les vins de chaque cru. 102
Figure 16. Dispersion des teneurs (en µg/L) en DMS quantifiées dans les vins de chaque cru. 103
Figure 17. Exemples de tendances adoptées par les teneurs des composés en fonction des âges des vins (corrélation avec l'âge qui semble positive (en vert), négative (en rouge) et absente (en noir)). 105
Figure 18. Corrélation entre les âges des vins et leur note de typicité attribuée lors des dégustations. 109

Figure 19. Cercle de corrélation issus de la régression PLS appliquée aux composés chimiques dosés (non corrélés avec les âges des vins), à la note moyenne de typicité et aux moyennes des intensités des descripteurs "fruits frais rouges et noirs", "sous-bois" et "truffe" pour les 24 vins rouges de Bordeaux analysés. Les codes des vins soulignés (couleur noire) ont été jugés par le panel de professionnels comme les plus typiques du bouquet de vieillissement. **Diffusion non autorisée.** 110
Figure 20. Classification ascendante hiérarchique (CAH) des composés volatils issus du bois de chêne quantifiés dans les 80 vins rouges. **Diffusion non autorisée.**..... 114
Figure 21. Concentrations moyennes en composés volatils issus du bois de chêne en fonction des groupes issus de la CAH. Les lettres a, b et c indiquent les différences significatives entre les groupes. Les barres d'erreur indiquent les écart types d'analyse. **Diffusion non autorisée.**..... 114
Figure 22. Analyse en composantes principales (ACP) des teneurs des composés volatils dans les 80 vins étudiés. Les graphiques **1a)** et **1b)** différencient les échantillons suivant les rives. Les graphiques **2a)** et **2b)** différencient les crus de la rive droite seulement tandis que les graphiques **3a)** et **3b)** différencient les crus de la rive gauche. Les couleurs correspondantes aux rives et aux Châteaux sont indiqués sur les cartes de répartition. **Diffusion non autorisée.**..... 116
Figure 23. Identification des molécules indispensables à la séparation des rives et des crus. Démarche guidée par l'analyse factorielle discriminante (AFD) réalisée sur teneurs des composés volatils quantifiés dans les 80 vins de l'étude..... 120
Figure 24. Estimation, par la mesure du $\delta^{13}C$ (‰) dans l 'éthanol, des statuts hydriques des vignes dont sont issus les vins étudiés. 145
Figure 25. Estimation du statut hydrique de chaque vin pour les 12 millésimes étudiés par la mesure du $\delta^{13}C$ (‰) dans l'éthanol. **Diffusion non autorisée.**..... 145
Figure 26. Confrontation entre la note de typicité moyenne du bouquet de vieillissement et le $\delta^{13}C$ représentant le niveau de déficit hydrique moyen pour deux séries de vins sélectionnées (cru 1 et cru 6). Les vins jugés typiques du bouquet de vieillissement sont représentés par les carrés verts, les vins intermédiaires par les disques oranges et les vins non typiques par les triangles rouges. **Diffusion non autorisée.** 146
Figure 27. Corrélations (coefficient de Spearman, p-value, R^2) entre les teneurs en composés volatils et la proportion du cépage dans les assemblages des vieux vins. CS : cabernet-sauvignon ; M : merlot ; CF : cabernet franc ; PV : petit verdot. **Diffusion non autorisée.**..... 150
Figure 28. Représentation de la quantité de DMS encore libérable (ou pDMS - couleur foncée) et du DMS déjà libéré (DMS libre - couleur claire) pour les vins de rive droite (a et b) et de rive gauche (c et d). **(a)** teneurs en µg/L du « DMS libérable » et du « DMS libre » dans les millésimes des crus de rive droite étudiés, **(b)** pourcentage que représente le « DMS libérable » et « libre » dans les crus de rive droite. Les graphiques **(c)** et **(d)** correspondent aux teneurs et aux pourcentage pour les vins de rive gauche. **Diffusion non autorisée.**..... 159

Figure 29. Taux de conversion du pDMS en DMS mesuré dans les vins de rive droite (points bleus) et les vins de rive gauche (points rouges) en fonction de leurs âges. 161
Figure 30. Voie de biosynthèse du limonène et des dérivés à odeur « menthée » proposée par Mahmoud et Croteau (2003). 163
Figure 31. Choix de la concentration d'enzyme adaptée pour libérer les terpènes "menthés" dans le vin (incubation à 25°C pendant 24 h). Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage. 165
Figure 32. Choix de la température d'incubation optimale pour libérer les terpènes à odeur "menthée" dans les vins (5 g/L d'enzymes et incubation à 25°C). Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage. 166
Figure 33. Comparaison des teneurs en terpènes "menthés" entre l'incubation à 4°C et 25°C pendant une semaine (ajout de 10 g/L d'enzymes). Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage. 167
Figure 34. Essai d'hydrolyse acide dans le vin à pH = 2,5 et 95°C avec différents temps d'incubation et dosage des composés « menthés » après hydrolyse. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage. 169
Figure 35. Hydrolyse acide à pH = 2,5 du limonène pur en solution modèle (incubation à 95°C pendant différentes modalités de temps). Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage. 170
Figure 36. Structures chimiques **(a)** du sulfure de diméthyle (DMS) et **(b)** de la *S*-méthylméthionine (SMM). 180
Figure 37. Stratégie choisie pour l'étude du pDMS et du DMS au cours des étapes clés de la vie du vin. 183
Figure 38. Caractéristiques (sol, travail du sol, année de plantation/âge des vignes, porte-greffe) des parcelles de références plantées de merlot et de cabernet-sauvignon sur l'ensemble du vignoble bordelais (données issus du réseau maturité, www.bordeauxraisins.fr). 187
Figure 39. Évolution du pDMS au cours de la maturation du merlot et du cabernet-sauvignon sur l'ensemble des zones étudiées. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage. 192
Figure 40. Synthèse du pDMS (µg/kg) en fonction de l'évolution de la maturité déterminée par le rapport [sucres]/[acidité totale] pour les moûts des parcelles de merlot (bleu) et de cabernet-sauvignon (rouge) du réseau maturité de l'ISVV. 193
Figure 41. Dynamique d'accumulation du pDMS (µg/kg) en fonction de l'évolution de la maturité déterminée par le rapport [sucres]/[acidité totale] pour les moûts de merlot et de cabernet-sauvignon issus des différentes zones de production. 193

Figure 42. Suivi de l'évolution du pDMS au sein d'une parcelle d'un Château partenaire de l'étude où les cépages merlot, cabernet-sauvignon et petit verdot sont implantés. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage. **Diffusion non autorisée.** 194
Figure 43. Évolution du pDMS (µg/kg) en fonction de l'accumulation des sucres (g/L) dans les baies de merlot et de cabernet-sauvignon issus des parcelles de références du réseau maturité de l'ISVV. 195
Figure 44. Liens entre le pDMS, les statuts azoté et hydrique dans les 58 moûts de merlot (bleu) et cabernet-sauvignon (rouge) issus des 5 derniers millésimes sur l'ensemble du vignoble bordelais. **a)** teneurs du $\delta^{13}C$ en fonction de l'azote assimilable ; **b)** teneurs du pDMS en fonction de l'azote assimilable ; **c)** teneurs du pDMS en fonction du $\delta^{13}C$. 198
Figure 45. Teneurs du pDMS en fonction des groupes de statut hydrique des 58 moûts étudiés. Les croix rouges indiquent les moyennes et les traits rouges indiquent les médianes de chaque série..... 199
Figure 46. Teneurs en azote assimilable (mgN/L) et en pDMS (µg/L) dans les moûts de merlot issus de raisins récoltés à maturité lors des 5 derniers millésimes dans les différentes zones de production de Bordeaux. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage..... 200
Figure 47. Teneurs en azote assimilable (mgN/L) et en pDMS (µg/L) dans les moûts de cabernet-sauvignon issus de raisins récoltés à maturité lors des 5 derniers millésimes dans les différentes zones de production de Bordeaux. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage. 201
Figure 48. Dispersion des teneurs en pDMS (µg/L) en fonction des types de sols qui caractérisent les parcelles de référence de l'étude. Les croix rouges indiquent les moyennes et les traits rouges indiquent les médianes de chaque série..... 204
Figure 49. Dispositif et répétitions des clones de l'essai (3 ou 4 blocs/clones de 6 pieds). **Diffusion non autorisée.** 208
Figure 50. Modalités et dispositif d'effeuillage pour l'expérimentation terrain menée en 2018. **Diffusion non autorisée.**..... 209
Figure 51. Modalités d'enherbement pour l'expérimentation terrain menée en 2018. **Diffusion non autorisée.** 209
Figure 52. Plan expérimental "effeuillage/échardage" de 2018 effectué sur les parcelles de merlot et de cabernet-sauvignon. **Diffusion non autorisée.** 210
Figure 53. Teneurs en azote assimilable (mgN/L) et en pDMS (µg/L) dans les moûts issus de **(a)** merlot sur sols argileux, sableux, graveleux et **(b)** cabernet franc sur sols argileux, sableux, graveleux lors des millésimes 2018 et 2019. Les barres d'erreur indiquent les écarts-types des triplicats de dosage. **Diffusion non autorisée.** 213
Figure 54. Analyse en composantes principales des teneurs des 21 acides aminés libres, de l'azote assimilable et ammoniacal et du pDMS dans les moûts de merlot et de cabernet franc issus des différents types de sols lors du millésime 2018. **Diffusion non autorisée.** 214

Figure 55. Teneurs en pDMS (µg/L) dans les jus issus des différents clones provenants de la sélection massale (en bleu) et les clones commerciaux (en rouge). Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types intra-clones. **Diffusion non autorisée.** 216
Figure 56. Comparaison entre les concentrations en pDMS obtenues en 2017 et les concentrations obtenues en 2018 pour les mêmes blocs de clones. **Diffusion non autorisée.** 216
Figure 57. Analyse en composantes principales des teneurs de plusieurs indicateurs (statut azoté, maturité et statut hydrique) et du pDMS dans les moûts issus des différents blocs de clones. **Diffusion non autorisée.** 217
Figure 58. Analyse en composantes principales des teneurs en acides aminés libres, en azote assimilable, ammoniacal et en pDMS dans les moûts de merlot issus des essais effeuillage et enherbement réalisés en 2018. **Diffusion non autorisée.** 218
Figure 59. Teneurs en pDMS (µg/L) et en azote assimilable (mgN/L) dans des moûts issus d'une expérimentation **(a)** d'effeuillage et **(b)** d'enherbement. Les barres d'erreur indiquent les écarts-types des triplicats de dosage. **Diffusion non autorisée.** 219
Figure 60. Analyse en composantes principales des teneurs en acides aminés libres, en azote assimilable, ammoniacal et en pDMS dans les moûts de merlot et de cabernet-sauvignon issus des essais effeuillage et échardage réalisés en 2018. **Diffusion non autorisée.** 220
Figure 61. Nuage de points symbolisant les corrélations entre les quelques acides aminés (retenus après l'ACP) et le pDMS pour chaque cépage. **Diffusion non autorisée.** 220
Figure 62. Teneurs en pDMS (µg/L) et en azote assimilable (mgN/L) en fonction des différentes modalités d'effeuillage et d'échardage réalisées sur les zones définies des parcelles de **(a)** merlot et de **(b)** cabernet-sauvignon. Les barres d'erreur indiquent les écarts-types des triplicats de dosage. **Diffusion non autorisée.** 221
Figure 63. Étapes expérimentales de l'essai 1 : nanovinifications avec des niveaux d'azote assimilable différents 228
Figure 64. Étapes expérimentales de l'essai 2 : nanovinifications avec des réajustements en azote différents 231
Figure 65. Teneurs en pDMS (µg/L) des différents vins issus de l'essai « effeuillage et enherbement » au cours des différentes étapes de la vinification (pDMS sur moût : histogrammes noirs ; pDMS sur vin après la FA : histogrammes rouges ; pDMS sur vin fini après 5 mois de vieillissement en bouteille : histogrammes gris). Les barres d'erreur indiquent les écarts-types des triplicats de dosage. 237
Figure 66. Teneurs en pDMS (µg/L) des différentes modalités de l'essai « effeuillage et échardage » au cours de la vinification. **(a)** pDMS sur les moûts de merlot (gauche) et cabernet-sauvignon (droite) ; **(b)** pDMS sur vin après FA en erlenmeyers de 2 L pour le merlot (gauche) et cabernet-sauvignon (droite) ; **(c)** pDMS sur vin après FA et vins finis en cuves pour le merlot (gauche) et cabernet-sauvignon (droite). Les barres d'erreur indiquent les écarts-types des triplicats de dosage. 239

Figure 67. Évolution des concentrations en pDMS (µg/L) dans les échantillons de moût, mi-fermentation et vin modèle soumis à l'action d'un flux d'azote pendant 1 h 30 et 3 h. Les barres d'erreur indiquent les écarts-types des triplicats de dosage. 241
Figure 68. Dynamique d'évolution du pDMS dans les modalités non carencée (240 mgN/L), carencée (120 mgN/L) et très carencée (40 mgN/L) au cours de la fermentation alcoolique. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats biologiques. 242
Figure 69. Effet de la nature de l'azote de réajustement sur l'évolution des teneurs du pDMS (µg/L) au cours de la fermentation alcoolique. Les barres d'erreur correpondent aux écarts-types des triplicats biologiques. 244
Figure 70. Comparaison des teneurs en DMS mesurées à l'aide de deux méthodes d'extraction (SHS et HS-SPME) (Bouty, 2018). 249
Figure 71. Représentation de la molécule du DMS et la localisation des charges électrostatiques (logiciel Chem-3D-pro). 249
Figure 72. Plan expérimental mis en place pour l'étude des interactions DMS/tanins en solution modèle « vin ». 252
Figure 73. Plan expérimental avec les tanins T3 à 2 g/L et 4 g/L reproduit en triplicats sur 15 jours. 253
Figure 74. Plan expérimental mis en place pour l'étude du type de sorption à 8 jours pour des solutions modèle avec ajout de 1 g/L et de 4 g/L de tanins T3. 253
Figure 75. Plan expérimental mis en place pour l'étude de la cinétique du DMS sur 30 jours dans deux vins rouges et un vin blanc en triplicats. 254
Figure 76. Évolution du % de DMS libre sur 15 jours de garde dans des solutions modèles de vins supplémentés avec des modalités de tanins (T1, T2 et T3) à deux concentrations différentes (2 g/L et 4 g/L). 261
Figure 77. Évolution du % du DMS libre sur 15 jours dans une solution modèle de vin supplémentée avec 2 g/L et 4 g/L de la modalité de tanins T3. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats biologiques. 262
Figure 78. Isothermes d'adsorption et transformées de Lineweaver & Burk et de Scatchard correspondants à la sorption du DMS sur les tanins étudiés aux concentrations de **(a)** 1 g/L et **(b)** 4 g/L. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats expérimentaux. 264
Figure 79. Évolution du % de DMS libre sur 15 jours de garde dans deux vins rouges de 2018 et 2019 et dans un vin blanc. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats expérimentaux. 266
Figure 80. Fréquence de citation des 10 descripteurs aromatiques du DMS pour chaque concentration dégustée. Le pourcentage suivi de * correspond au pourcentage de dégustateurs ayant cités les descripteurs les plus représentés pour chaque modalité. 269

Figure 81. Pourcentage de dégustateurs ayant cité les descripteurs ci-joint dans les vins de merlot avec ajout de DMS et en comparaison avec le témoin sans ajout. 272
Figure 82. Pourcentage de dégustateurs ayant cités les descripteurs ci-joint dans les vins de cabernet franc avec ajout de DMS et en comparaison avec le témoin sans ajout. 274
Figure 83. Teneurs en DMS "libre", "total" et pDMS (µg/L) dans les modalités « carafe », ouvert 45 minutes avant et au moment de la dégustation. Les barres d'erreur indiquent les écarts-types des triplicats de dosage. 276
Figure 84. Nuage de mots en fonction de la génération des descripteurs et du nombre de fois où ces mots sont cités pour les modalités **(a)** « carafe », **(b)** ouverte 45 minutes avant la dégustation et **(c)** ouverte au moment de la dégustation. 277

LISTE DES SCHÉMAS BILAN

Schéma bilan 1. Principales conclusions et perspectives envisagées à la suite de l'étude sensorielle et chimique des vieux rouges de Bordeaux âgés de 11 à 28 ans. 127
Schéma bilan 2. Principales conclusions obtenues à l'issue de l'étude des contributions du terroir, du millésime et des pratiques œnologiques sur l'expression du bouquet de vieillissement. 175
Schéma bilan 3. Principaux résultats obtenus au cours de l'étude du DMS depuis le raisin jusqu'au service du vin..... 281

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'aptitude au vieillissement est l'une des caractéristiques qui fait la qualité d'un grand vin. Les vins dits « de garde » sont conservés de nombreuses années en cave et renferment l'espoir d'une grande dégustation. À l'ouverture, ces vins offriront une complexité, une harmonie et un plaisir intense qui animent les œnophiles. Au cours du vieillissement en bouteille, les arômes du vin ne cessent d'évoluer dans un environnement à l'abri de l'oxygène. Cette évolution aromatique, plus ou moins longue et complexe, permettra de conduire les arômes vers le bouquet de vieillissement. Émile Peynaud, grand œnologue bordelais, décrivait ce bouquet comme « *un mélange de parfums complexes qu'exhale le vin vieux dans le verre, se traduit par un fondu, un liant olfactif. L'évolution du vin vers le bouquet est un des phénomènes les plus impressionnants de l'œnologie et un des plus mal connu* » (Peynaud, 1980).

Depuis quelques années, les scientifiques tentent de comprendre les mécanismes de vieillissement des vins à partir des observations empiriques réalisées sur le terrain. L'étude du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux a fait l'objet d'une première série de travaux, qui a permis une grande avancée dans la connaissance de ce « mystère » caché au sein de la bouteille de vin (Picard, 2015). Le concept sensoriel du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux a été d'abord décrit puis une définition sensorielle en a découlé. Le bouquet de vieillissement s'articulerait autour d'une multitude d'odeurs dont les principales seraient décrites par les mots de « *fruits frais rouges et noirs* », « *sous-bois* », « *truffe* », « *réglisse* », « *menthe* », « *boisé* » et « *épicé* ». Ensuite, une étude moléculaire a permis de mettre en évidence quelques molécules comme faisant partie de la composition du bouquet de vieillissement des vins. Parmi elles, le sulfure de diméthyle (DMS) ou les composés à odeur « menthée » comme, par exemple, la pipéritone ont été particulièrement étudiés. Enfin une ouverture avait été proposée mettant en avant l'importance de divers paramètres du terroir sur l'expression du bouquet.

Or, il est décrit empiriquement que la qualité d'un vieux vin est reliée à la composition du raisin, dans un millésime, révélée par le savoir-faire des vinificateurs et par le passage du temps. Les travaux de Picard ont abordé cette idée et les résultats étaient prometteurs (Picard, 2015). Certaines des molécules volatiles du bouquet seraient donc révélées au vieillissement mais prendraient leur source dans le raisin ou après transformation de composantes du raisin. Ainsi les qualités d'un vin vieux prendraient leur source dans le sol et dans la vigne, le viticulteur et le vinificateur étant des passeurs dont le talent consisterait à conserver au mieux les qualités des fruits de la terre. La richesse du vignoble bordelais, grâce à la diversité des terroirs, implique que ce dernier joue un rôle central dans l'équation du bouquet de vieillissement. Logiquement il pourrait exister des spécificités aromatiques et moléculaires propres à chaque sous-espace bordelais. Cette thèse débutera avec ce postulat. Ensuite, la connaissance de l'identité de ces molécules du bouquet, de leur genèse, de leurs précurseurs et des paramètres viticoles qui influencent leurs teneurs sera une priorité de l'étude. Ce travail de thèse a pour objectif de comprendre comment le bouquet est conditionné dès la jeunesse du vin et de donner des pistes d'étude

VERSION DE DIFFUSION

pour, qu'à l'avenir, des outils soient transmis aux professionnels afin qu'ils sécurisent le potentiel de vieillissement de leurs vins.

Dans un premier temps, une étude sensorielle et analytique sera menée à partir de l'observation de grands vins produits au cours de différents millésimes et dans plusieurs aires de production du vignoble de Bordeaux. Ces vins constituent des modèles d'étude, étant donné qu'ils sont le fruit d'une bonne association entre le sol, le cépage et le climat de leur zone de production. Le bouquet de vieillissement de ces vins sera recherché et une large analyse moléculaire quantitative ciblée sera effectuée. Grâce à l'étude de la composition de ces vieux vins âgés de minimum 10 ans, une démarche sera entreprise afin d'observer s'il existe une différenciation sensorielle et chimique, au cours du vieillissement du vin, entre les rives du vignoble bordelais et entre les crus étudiés. Ce travail part du principe selon lequel les vieux vins sont le reflet du terroir sur lequel ils sont produits. Les résultats viendront agrémenter cette idée.

Dans un second temps, la composition des vieux vins sera mise en relation avec les éléments du terroir à savoir le statut hydrique et azoté de la vigne ainsi qu'avec la pratique de l'assemblage des vins. Le conditionnement du bouquet de vieillissement par le biais de ces éléments sera recherché. Une étude des précurseurs des molécules faisant partie du bouquet de vieillissement sera entamée. Dans cette partie, un regard vers le passé sera posé, afin de retracer l'importance du facteur terroir sur la composition aromatique des vins vieux de qualité. Les données exploitables traçant les conditions de production des raisins anciens seront testées. Un regard vers le futur viendra complémenter cette étude afin de débuter le travail de « prédiction » d'un vieillissement plus ou moins qualitatif des vins.

Ces derniers résultats nous inviteront à porter une attention particulière à l'étude du sulfure de diméthyle. Ce dernier a été sélectionné pour sa contribution positive dans la composition du bouquet lors de l'étude de Picard (Picard, 2015) et pour son origine végétale. Dans le temps imparti d'un projet de recherche, il est difficile de suivre l'évolution d'une molécule pendant le temps de vieillissement. La capacité de mesure du DMS depuis son/ses précurseur/s par libération forcée (potentiel en DMS), nous invite, d'une part, à étudier les paramètres viticoles qui vont favoriser les teneurs de son/ses précurseur/s et, d'autre part, à suivre sa dynamique d'évolution au cours des points clé de la vie du vin : de la vigne jusqu'au verre.

CONTEXTE ET OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

Ce travail de thèse s'inscrit dans un thème de recherche dont le but est de comprendre les mécanismes du vieillissement qualitatif des vins. Il se limitera à l'étude de l'arôme. Le partenariat avec des domaines viticoles de la région bordelaise nous a donné l'opportunité de travailler à la lumière des interrogations des responsables techniques vis-à-vis des vins qu'ils produisent. Les réponses à leurs questionnements contribueront à la pérennité de la production de grands vins à Bordeaux.

Cette partie présentera le contexte et les objectifs de l'étude. Elle expliquera brièvement pourquoi Bordeaux et son histoire sont liés à une production viticole riche en qualité et en diversité. Ensuite, elle définiera en quoi la maîtrise de chaque étape de l'élaboration des vins permet aux grands crus de Bordeaux de produire des vins de qualité et de grande garde. Un aperçu général de l'évolution des arômes des raisins aux vins nous permettra de comprendre comment le vieillissement opère. La suite du manuscrit sera ciblée sur les arômes du vieillissement qualitatif des vins.

1. BORDEAUX : UNE IDENTITÉ VITI-VINICOLE UNIQUE

1.1 Bordeaux et l'œnologie

Marquée par une histoire viticole dont les origines se perdent dans l'iconographie antique, la ville de Bordeaux se fond au centre de plus de 100 000 hectares de vigne qui composent le vignoble bordelais. Les premières preuves de l'existence d'un vignoble datent de l'empire romain au 1er siècle après J.-C. La tribu des *Biturіges Vivisques* fonde Burdigala qui deviendra Bordeaux. Ces Celtes se convertissent au commerce et à l'agriculture puis posèrent les bases d'un art de vivre qui est toujours le maître mot de la région. À cette époque, les variétés de vignes, étaient importées depuis le pourtour méditéranéen par les troupes de l'empire romain. Les cépages originels étaient alors adaptés au climat méditerranéen chaud et sec mais un nouveau cépage, le « *biturica* », résistant au froid et plus adapté à la région girondine, fut implanté. Il est l'ancêtre des cabernets bordelais. Cet évènement symbolise la présence d'une viticulture antique spécifique à Bordeaux (Aubin et al., 1996; Roudié, 2013).
L'espace bordelais est le plus vaste vignoble d'appellation français. En 2013, 117 500 hectares étaient répertoriés dont 113 400 hectares de vignes sont classés en AOC. La production des vins se hisse entre 5 et 6 millions d'hectolitres par an, soit environ 700 millions de bouteilles. Les nombreuses AOC qui entourent Bordeaux produisent des vins exportés à travers le monde, de l'Asie orientale (Chine par exemple) à l'Amérique du Nord en passant par l'Europe septentrionale (Allemagne, Royaume-Uni, Belgique, Pays-Bas par exemple). Au début des années 2010, 58% de la production des vins de Bordeaux était destinée à ce marché d'exportation (Bradfer et al., 2013; L'école du vin de Bordeaux, 2014).

À côté de l'activité de production, les activités de commerce et de négoce sont aussi très importantes à Bordeaux de même que les manifestations viticoles. Ces dernières placent Bordeaux et ses vins au devant de la scène médiatique. Parmi ces évènements, on retrouve « Vinexpo Bordeaux » qui réunit les professionnels du vin tous les deux ans depuis 1980. Mais aussi, « Bordeaux fête le vin » et « Bordeaux Tasting », plus orientés vers la promotion de la filière auprès des consommateurs, en réunissant à chaque édition, de nombreux amateurs de vins. Toujours à l'attention du grand public, la Cité du Vin est un musée qui a ouvert ses portes en 2016. Il permet de voyager, au travers de l'histoire du vin et des civilisations, dans les vignobles du monde. Les visiteurs y ont la possibilité de découvrir leurs propres capacités sensorielles, de déguster des vins et d'assister à des conférences animées par des professionnels de la filière (https://www.laciteduvin.com/fr).
La notoriété des vins de Bordeaux fait que cette ville est finalement devenue un synonyme de « vin ».

1.2 La richesse du vignoble bordelais

1.2.1 Géographie et topographie

Le vignoble bordelais est vaste et s'organise par secteurs délimités par des cours d'eau (**Figure 1**) : la Garonne, la Dordogne et la Gironde (l'estuaire). On distingue trois grands secteurs géographiques de topographie différentes (Aubin et al., 1996; L'école du vin de Bordeaux, 2014) :

- la « rive gauche », un vignoble situé à l'Ouest de la Gironde sur un plateau souvent graveleux s'abaissant doucement vers le littoral ;
- la « rive droite » est constituée de vignobles du nord de la Dordogne situés à l'Est sur un plateau dont l'altitude monte à près de 200 m, ondulé et creusé de vallées assez profondes mais sans pentes sévères, ni accidents de terrain ;
- « l'entre-deux-mers » est constitué de vignobles situés entre Garonne et Dordogne, au centre de ces deux derniers secteurs, sur un terrain assez vallonné où l'on peut rencontrer les points culminants du département girondin.

Au sein de ces grands secteurs géographiques, des sous-régions sont distinguées. Elles seront davantage détaillées dans le paragraphe 1.3.2 (page 9).

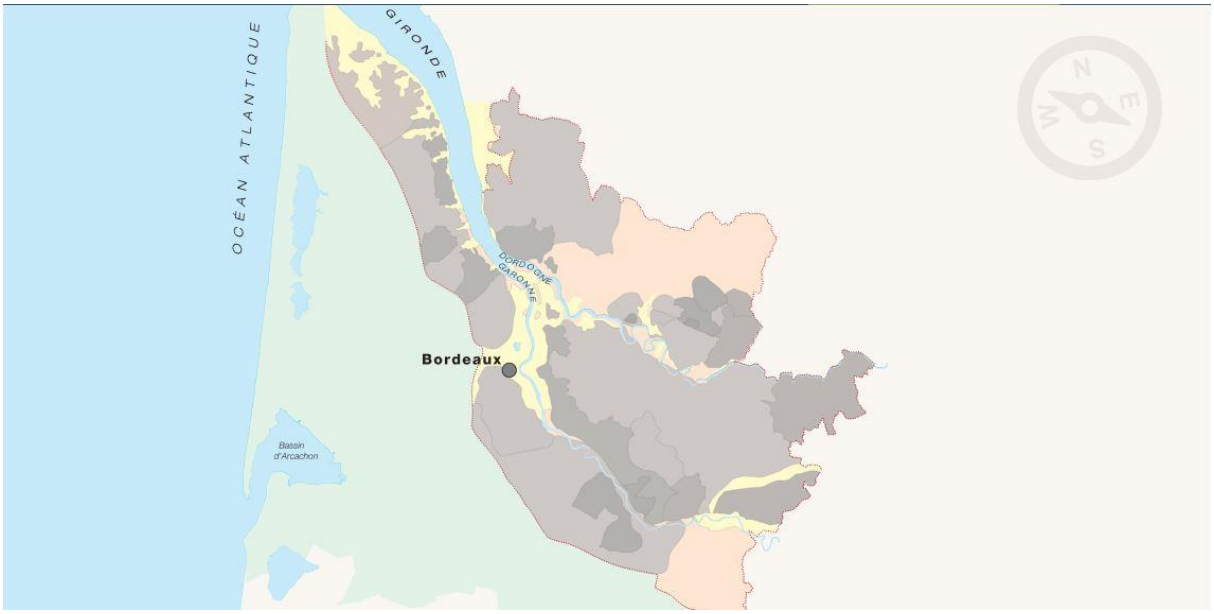


Figure 1. Carte du vignoble bordelais. *(Source : https://www.bordeaux.com/fr)* Les différentes zones de production sont représentées en gris.

1.2.2 Climat

Situé proche du littoral de l'océan Atlantique, le vignoble bordelais est traversé par le 45° parallèle nord qui se situe à mi-chemin entre l'équateur et le Pôle Nord. La région bénéficie d'un climat tempéré dont la douceur est due à la proximité du « Gulf Stream ». Des températures « douces » sont mesurées pendant la phase de développement de la vigne. La proximité de l'océan, de l'estuaire et des deux fleuves fait que l'air présente une hygrométrie suffisante, même en été lorsque l'air est chaud. Les précipitations sont réparties tout au long de l'année de manière assez équilibrée avec des moyennes plus importantes au cours de la période de septembre à février. Les hivers peu rigoureux, les printemps relativement humides, l'ensoleillement et l'alternance des nuits fraîches et des journées chaudes en été, permettent à la vigne de s'épanouir dans un climat favorable (Aubin et al., 1996; Bradfer et al., 2013).

1.2.3 Encépagement et diversité de sols

La région bordelaise produit à la fois des vins rouges et blancs mais aussi des vins blancs liquoreux issus de vendanges « botrytisées ». Les cépages cultivés dans le bordelais sont tous de l'espèce *Vitis vinifera*. À Bordeaux, les cépages rouges cultivés font partie d'une même famille, il s'agit des « carmenets » dont le cabernet franc, le cabernet-sauvignon et le merlot sont les principaux représentants. Au sein de cette famille nombreuse, il existe une certaine parenté morphologique et quelques ressemblances aromatiques (Peynaud, 1980). Selon les données de 2013, l'encépagement rouge du bordelais est principalement constitué de merlot à 63%, de cabernet-sauvignon à 23% et de cabernet franc à 10 %. Les 4% restants

sont constitués de cépages minoritaires comme le petit verdot, la carmenère et le malbec (L'école du vin de Bordeaux, 2014).

Le merlot serait à la fois précoce et vigoureux, il exprimerait ses qualités dans la plupart des sols du bordelais. Cependant, il est dominant sur les sols frais et humides de la rive droite où il exprimerait toutes ses qualités organoleptiques de fruits rouges et noirs charnus, et après quelques années en bouteille, de notes d'humus, de gibier, de sous-bois et de truffe. À ses côtés, le cabernet-sauvignon plus tardif est dominant sur les sols de la rive gauche, plus chauds et secs. Il apporterait un caractère très aromatique aux vins jeunes et une puissance tannique favorable à une longue conservation en bouteille. Dès lors, ses qualités organoleptiques seraient révélées au travers de notes de fruits noirs, de réglisse, de menthe, de bois de cèdre associées à des caractères empyreumatiques puissants évoquant le bois brûlé et la cendre froide. Cette complexité est atteinte dans les grands vins et peut se développer après plusieurs années passées en bouteille. Enfin, le cabernet franc est surtout cultivé dans les vignobles de la rive droite. Il peut être important dans l'assemblage de certains vins de cette région. Ce cépage produirait des vins très expressifs aux intensités tanniques prononcées associées à des notes minérales, mentholées et de fruits rouges. Des cépages blancs sont aussi cultivés dans le vignoble bordelais, le sémillon et le sauvignon blanc représentent à eux deux les trois-quarts de l'encépagement blanc de la région. Des cépages blancs minoritaires sont retrouvés dans le bordelais comme la muscadelle par exemple (Dubourdieu, 2003).

En complément d'une relative diversité de cépages, le vignoble bordelais est implanté sur une large palette de sols.

- Les sols graveleux sont couramment rencontrés sur la rive gauche du vignoble bordelais. Ils ont la particularité d'être « pauvres en nutriments » et filtrants, d'accumuler la chaleur au cours de la journée et de la restituer pendant la nuit (Peynaud, 1980; Van Leeuwen, 2009).
- Les sols calcaires, ou à dominante calcaire, se trouvent notamment sur le plateau de Saint-Émilion, vignoble de la rive droite. Ces sols sont souvent associés à la culture du cépage merlot (Van Leeuwen, 2009; Bradfer et al., 2013).
- Les sols argileux peuvent être retrouvés dans l'ensemble du vignoble bordelais. Les argiles sont généralement associées à d'autres roches et/ou structures de sols où l'on pourra rencontrer des combinaisons multiples, comme les argilo-calcaires, dans la région de l'entre-deux-mers. Ces sols « argileux » constitués de particules fines ont la capacité de capter et retenir l'eau afin de la restituer à la vigne dès lors qu'elle en a besoin (Bradfer et al., 2013; L'école du vin de Bordeaux, 2014).
- Les sols sablonneux, limoneux et les palus sont minoritaires mais présents un peu partout dans le vignoble. Selon Bradfer et al. (2013), les palus sont des terrains alluvionnaires

argileux bordant la Garonne, la Dordogne et l'estuaire. Ils auraient la capacité de donner des vins colorés et robustes qui manquent parfois de finesse.

1.3 Les particularités des vins de Bordeaux

La région bordelaise a marqué l'histoire viticole par de nombreuses innovations et spécificités. Aujourd'hui, on peut citer quelques particularités qui font la signature des vins de Bordeaux.

1.3.1 La notion de « château viticole » et l'art de l'assemblage

Dans le bordelais, la notion de « château viticole » est née au cours de la seconde moitié du XIXème siècle. Ce terme de « château » signifie aussi bien l'exploitation viticole en entier que le bâtiment d'habitation qui y est lié. Cette notion inaugure le concept de propriété produisant des vins de qualité (Roudié, 2000).

Les viticulteurs bordelais ont l'habitude de pratiquer l'art de l'assemblage au sein des vins produits dans la propriété. Ils choisissent de produire un faible nombre de références représentatives d'un ensemble « château » et non pas, comme cela se pratique en Bourgogne, des vins représentatifs d'un seul sol et d'un seul cépage.

1.3.2 Les notions de « terroir » et de « cru »

La définition de la notion de terroir, proposée par l'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (OIV, 2010) indique que le « terroir » vitivinicole est « *un concept qui se réfère à un espace sur lequel se développe un savoir collectif, des interactions entre un milieu physique et biologique identifiable et les pratiques vitivinicoles appliquées, qui confèrent des caractéristiques distinctives aux produits originaires de cet espace. Le « terroir » inclut des caractéristiques spécifiques du sol, de la topographie, du climat, du paysage et de la biodiversité*. ». Sur l'ensemble du vignoble bordelais, et au sein même de chaque rive, il existe différents sous-espaces viticoles incluant plusieurs aires d'appellations d'origine contrôlée (AOC). Parmi elles, nous pouvons citer les AOC dites communales de Pauillac et de Margaux qui appartiennent au sous-espace bordelais du « Médoc », l'AOC Pessac-Léognan qui appartient au sous-espace des « Graves » puis les AOC de Pomerol et de Saint-Émilion (générique et grand cru) qui appartiennent au sous-espace du « Libournais ». L'interaction des climats avec la topographie, les cépages, la diversité des sols et les pratiques viti-vinicoles locales caractérisent ces différents sous-espaces que l'on peut nommer « terroirs ».

Dans le bordelais, la notion de « cru » identifie une exploitation et fait référence à un « château viticole », à la différence du « modèle » bourguignon qui fait l'étroite correspondance entre

« terroir » (défini par les données naturelles des vignobles) et « cru » (Hinnewinkel, 1999). À Bordeaux, les caractéristiques de chaque cru sont liées à la fois à l'histoire du château, à son foncier agricole et aussi aux styles désirés par les vinificateurs. Les crus ont donc des origines multiples et des caractéristiques complexes.

1.3.3 La hiérarchie des vins et le classement des crus

Dans la vaste palette des vins de Bordeaux, il existe diverses hiérarchies. Au sein même des châteaux, les producteurs trient les lots de vins pour produire souvent plusieurs références appelées « premier vin » ou « grand vin », « second vin ». Parfois, un lot peut constituer un « troisième vin ». Quel que soit le millésime, la production du « grand vin » est essentielle. Cette production répond à des objectifs qualitatifs, commerciaux et constituent l'image même des vins du « cru ».
Les vins de Bordeaux sont aussi connus pour les multiples, et très discutés, systèmes de classement des crus. Le système de classement ne s'inscrit et n'est compréhensible qu'au travers de l'histoire même de la viticulture bordelaise. À l'échelle locale, il existe plusieurs classements fondés sur une appréciation de la qualité constante des vins (Aubin et al., 1996; Roudié, 2013).

1.3.4 La notion de « millésime »

À l'exception de quelques cas particuliers, la notion de millésime est très importante pour le monde viticole. Étant donné que la qualité du vin dépend de celle du raisin et que cette dernière est liée aux conditions climatiques de l'année (ou plutôt des deux années) précédant la récolte, le millésime conditionne l'expression du terroir. Au travers de la température de l'air (intensité et pics de températures), des radiations lumineuses et des précipitations, le climat est déterminant pour la synthèse ou la dégradation des métabolites secondaires du raisin tels que les anthocyanes, certains composés odorants (tel que l'IBMP) ou encore les C_{13}-norisoprenoïdes. D'autre part, le climat est déterminant sur le développement de maladies et des ravageurs de la vigne (mildiou, oïdium, botrytis par exemple), qui infuencent eux aussi la qualité du raisin. *In fine* les attributs sensoriels du vin dépendent clairement des conditions du millésime (Spayd et al., 2002; Van leeuwen et al., 2004; Falcão et al., 2007; Alonso et al., 2016). Ce point sera exposé plus en détail dans le paragraphe 2.1., page 11.
En résumé, il existe des conditions climatiques à respecter en lien avec les stades phénologiques décisifs (floraison, nouaison, véraison, maturité) pour que les millésimes soient jugés « réussis » pour la production de vins rouges. Tout d'abord, des conditions plutôt chaudes et sèches afin que la floraison et la nouaison se réalisent rapidement, puis l'installation d'une contrainte hydrique progressive au mois de juillet afin que la croissance de la vigne s'arrête définitivement à la véraison. Ensuite, la maturation doit être complète et homogène et les vendanges doivent se dérouler dans des conditions climatiques plutôt

clémentes pour éviter les risques de dégradation des métabolites du raisin et le risque de maladies (Geny et al., 2010).

Les vins de Bordeaux sont également réputés pour leur fort potentiel de garde car ils sont capables de vieillir pendant des années et présenter des caractéristiques aromatiques de jeunesse après plusieurs années de vieillissement. Les millésimes vont aussi influencer la capacité des vins à vieillir. L'aperçu de la viticulture à Bordeaux, de son espace viticole et de ses vins, montre qu'il existe une multitude de facteurs qui influencent la qualité des vins.
Ce travail de thèse étudiera les terroirs des sous-espace bordelais, les crus, la qualité des millésimes en lien avec la qualité des vins jeunes et vieux. Nous espérons apporter des éléments supplémentaires à la connaissance des vins rouges et comprendre comment est construite leur aptitude au vieillissement. Avant cela, il est nécessaire d'évoquer les étapes d'élaboration des vins rouges qui vont participer la révélation des arômes de vieillissement.

2. LES GRANDS CRUS : DES VINS ROUGES QUALITATIFS À HAUT POTENTIEL DE GARDE

2.1 La composante aromatique comme gage de qualité des vins

2.1.1 La composante aromatique des vins

Le vin présente une palette d'arômes très riche. Ces arômes ne sont pas toujours dus à la présence d'un seul composé mais à la présence d'un mélange de molécules. Leurs teneurs sont mesurées dans des ordres de grandeur très variés allant de plusieurs dizaines de mg/L jusqu'à l'état de « traces », de l'ordre du ng/L ou encore du pg/L (Schreier and Jennings, 1979; Etievant, 1991; Francis and Newton, 2005; Ebeler and Thorngate, 2009). Certains auteurs estiment la présence de 800 composés volatils dans les vins et une faible part d'entre eux sont présents à des concentrations supérieures à leurs seuils de détection olfactif (Maarse and Vischer, 1989; Guth, 1997; Culleré et al., 2004; Zhang et al., 2007; Li et al., 2008; Villamor and Ross, 2013). D'autres arômes peuvent-être présents en-dessous de leurs seuils de détection olfactifs mais, par le biais d'interactions perceptives, participer l'élaboration de notes olfactives au cœur du mélange ou encore à la complexité des arômes des vins (Pineau et al., 2009; Lytra et al., 2012a; Stamatopoulos et al., 2014; Cameleyre, 2017).

Au cours de la vie du vin, les sources d'arômes sont nombreuses : métabolisme du raisin, métabolismes fermentaires, réactions chimiques ou enzymatiques opérant au cours de la vinification, interactions avec les contenants d'élevage ou encore réactions chimiques lors du vieillissement (Schreier and Jennings,

1979; Etievant, 1991; Francis and Newton, 2005; Styger et al., 2011; González-Barreiro et al., 2015). De ce fait, l'arôme du vin ne fait qu'évoluer et se modifier au cours de la vie du vin.

2.1.2 La qualité des vins

Selon Peynaud (1980), la qualité d'un vin est *« l'ensemble de ses propriétés qui le rendent acceptable ou désirable et qui vont conditionner le jugement du vin »*. Les critères de qualité d'un vin s'articulent autour des notions de complexité, d'équilibre, de longueur en bouche mais aussi de potentiel de garde. La complexité des vins est liée à notre capacité à percevoir les diverses molécules présentes dans les vins sans qu'une odeur soit dominante et/ou ne masque l'ensemble des autres odeurs. L'équilibre des vins rouges est lié à la perception des goûts (acide, sucré, amer) mais aussi à des perceptions somesthésiques liées aux tannins et à l'alcool par exemple (Peynaud, 1980). Récemment, de nombreux composés sapides issus du raisin et du bois de chêne ont été identifiés. Ces composés, aux saveurs sucrées et/ou amères, participent à l'équilibre des vins et des eaux-de-vie (Marchal, 2010; Cretin, 2016; Winstel, 2019).

Le potentiel de garde des vins est une autre notion liée à la qualité mais c'est la seule qui n'est pas quantifiable au cours de la dégustation descriptive ou de l'analyse des vins. L'estimation du potentiel de garde demande une capacité de projection, qui est elle-même liée à l'expertise du dégustateur. Cette capacité de projection sera ensuite vérifiée lors de l'ouverture de la bouteille après plusieurs années de vieillissement. Toutefois le potentiel de garde des vins reste lié à la notion de « grands vins ». Ces derniers ont des arômes complexes, leur perception gustative est « longue » en bouche et souvent soulignée par une note d'amertume élégante. Ils sont aussi dotés d'un potentiel de garde « assez conséquent ». Cette notion, demande toutefois à être définie. Tous ces critères sont le fruit d'un travail minutieux du vigneron, du vinificateur, du propriétaire des bouteilles vieillissantes ou encore du sommelier. Tous participent à l'élaboration de l'image sensorielle des « grands vins » depuis le sol jusqu'à l'ouverture de la bouteille.

2.2 Quelques clefs de la réussite d'un grand vin

2.2.1 La récolte d'un raisin de qualité

Selon Peynaud (2012), « *l'œnologue est conscient que le mode de production* [des raisins] *influe davantage sur la qualité du vin que les moyens dont il dispose en vinification, ce qui signifie que la qualité du vin dépend, en premier lieu, de la qualité du raisin, secondairement de la méthode de transformation* ». La qualité du raisin semble primordiale pour la production de vins de qualité.

D'autre part, il est acquis que le terroir influence grandement la composition de la vendange. Des raisins cultivés sur différents sols peuvent avoir des teneurs en composés majoritaires tels que les sucres, les acides ou bien les anthocyanes, différents suivant l'endroit sur lequel la vigne a été cultivée (Morlat et al., 2001). Comme nous l'avons évoqué, le terroir est une notion multiparamétrique incluant, entre autres, la vigne, le sol et le climat. Le terroir est un élément de la viticulture à intégrer pour comprendre la diversité des raisins et la typicité des produits. Ce terroir influence la production de raisins au travers du profil racinaire de la vigne, de la précocité du cycle végétatif, de l'alimentation en eau, de la vigueur et du rendement (Carbonneau, 2001; Morlat et al., 2001). C'est une des raisons pour laquelle, aujourd'hui, les climats sont largement étudiés et modélisés à différentes échelles (Le Roux et al., 2015; de Rességuier et al., 2020).

De ce fait, le vigneron prend connaissance de l'environnement de son vignoble, de son climat et, bien évidemment, de son sol afin de valoriser au maximum le potentiel de ses parcelles (Peynaud, 1980). Il adapte son matériel végétal en choisissant tout d'abord le ou les porte-greffes adaptés à ses sols puis à son greffon, pour la réussite de la plantation et la production des raisins de qualité. Il s'agit de l'élément majeur de l'expression d'un terroir viticole (Van Leeuwen and Roby, 2001). Aujourd'hui, pour les nouvelles plantations, le vigneron peut également prendre en compte l'origine génétique du cépage et la façon dont la vigne est conduite. Enfin, le régime hydrique joue un rôle déterminant dans la valorisation du sol par le cépage (Cordeau, 2001; Van Leeuwen, 2001). Il est donc au centre des relations entre les différentes échelles de climat et de sol, et c'est lui qui fournirait la typicité de la vendange de qualité. De plus, étant donné que les vins de Bordeaux sont des vins d'assemblage, chaque cépage doit apporter ses plus jolies caractéristiques pour que le phénomène synergique d'assemblage crée un résultat qualitatif au-delà des qualités d'un seul constituant (Cordeau, 2001).

À partir du moment où le vignoble est prêt à produire, le comportement de la vigne au cours de son cycle jouit d'une attention particulière. Le viticulteur adapte sa taille pour définir le futur potentiel de récolte. Il travaille les sols pour que la vigne puisse puiser les éléments essentiels à sa croissance tels que les minéraux et oligo-éléments. Il travaille aussi le palissage, maîtrise la surface foliaire pour exposer feuilles et baies aux rayonnements nécessaires à la photosynthèse. Cependant, les éléments puisés ou reçus par la vigne influencent la qualité aromatique des baies et des vins, mais ces effets ne sont pas totalement connus. Ensuite, le viticulteur définit la charge de ses raisins en vue de d'obtenir des rendements optimisés pour une maturation des raisins. De plus, la pression sanitaire est un phénomène à observer et contraindre car elle peut créer des dégâts importants dans les vignobles. La vigne, que ce soit ses feuilles, ses rameaux ou ses grappes sont les premières cibles des ravageurs et le siège des maladies cryptogamiques. Le viticulteur lutte à l'aide de solutions qui sont propres à l'itinéraire technique de chaque propriété. Cependant, les décisions prises pour effectuer ces travaux sont, très souvent, le fruit de compromis environnementaux, financiers et techniques ainsi que de paris faits sur

l'évolution des conditions climatiques et sanitaires. Il importe donc de poursuivre les recherches sur la connaissance fine des effets de ces paramètres sur la qualité du vin et sur le potentiel de garde.

La période de maturation est une période clé pour récolter *in fine* un raisin de qualité. Le choix de la date de récolte des raisins résulte souvent d'un compromis entre les teneurs optimales en sucres, en acides, en arômes et en tanins des raisins. Pour une réussite de la maturation, le climat doit être chaud et sec, sans chaleurs excessives afin que les baies de raisins rouges se chargent en sucres et en composés phénoliques. Au cours de la période de maturation des raisins, plusieurs surveillances sont effectuées et surtout à l'approche des vendanges. Il s'agit de suivis chimiques et de suivis par la dégustation des baies (pulpe, pellicule, pépins). Les analyses réalisées sur le raisin pendant cette période concernent plusieurs variables qui vont caractériser le potentiel du raisin avant la vinification (poids des baies, sucres, acide malique, AT, pH, anthocyanes, extractibilité par exemple). Donc, pour être qualitatif, le raisin doit atteindre plusieurs typologies de maturités : la maturité phénologique qui demande à la vigne de réaliser son cycle végétatif après la véraison, la maturité technologique qui va donner le rapport sucres/acides et qui déterminera le degré potentiel des vins, la maturité aromatique qui va donner une idée de la concentration des arômes dans le raisin et la maturité phénolique qui indiquera les teneurs et qualités en anthocyanes et tanins des pellicules ainsi que les teneurs des tanins des pépins. La dégustation des baies permet au viticulteur de ressentir et de se donner une idée des caractères gustatifs des vins qui pourront être élaborés (Rousseau, 2001). De plus, il va de soi que le raisin doit-être sain pour ensuite poursuivre son chemin vers le chai.
Ces divers paramètres de maturité influencent le choix de la date de vendange par le vinificateur parfois appelée maturité « œnologique ». Le vigneron effectue un compromis en tenant compte de son expérience et du type de vin recherché (Coulon and Abbal, 2013).

2.2.2 Les arômes présents dans le raisin

Les composés odorants métabolisés dans le raisin au cours de sa maturation jouent un rôle déterminant dans la qualité du vin produit et conditionnent son caractère variétal. Par exemple, les notes de « buis », « agrumes », caractéristiques des vins issus du cépage sauvignon blanc, les notes de « cassis » et « violette », caractéristiques des vins de cabernet-sauvignon et les notes « poivrées », caractéristiques des vins de syrah prennent leur source dans le raisin et participent à l'identité des vins de ces cépages (Ribéreau-Gayon et al., 2012a; Peynaud and Blouin, 2013). Leur présence et leurs quantités dépendent, des caractéristiques du terroir et des pratiques de vinification, qui révèlent une partie de l'arôme caché du raisin (Styger et al., 2011; González-Barreiro et al., 2015).
Les composés volatils identifiés dans les raisins, qui participent à l'arôme dit « variétal », sont issus de différentes familles chimiques tels que les terpènes, les C_{13}-norisoprénoïdes ou encore les thiols dits « variétaux ». D'autres molécules comme les alkyl-méthoxypyrazines sont aussi présentes dans les baies

mais sont considérées comme des déviations (dans le cas présent, un défaut de maturité). Toutes ces molécules peuvent se trouver dans le raisin sous une forme « libre » et donneront des moûts odorants dont l'arôme ressemblera à celui des raisins (Gunata et al., 1985; Ebeler and Thorngate, 2009; Ribéreau-Gayon et al., 2012a; González-Barreiro et al., 2015). Mais, ces composés odorants peuvent aussi se trouver dans les moûts sous forme de précurseurs glycosylés, liés avec des glucides, ou encore sous forme de précurseurs *S*-conjugués, liés à la cystéine ou au glutathion par exemple. Ces caractéristiques aromatiques seront révélées après les étapes d'extraction des moûts, de vinification et d'élevage des vins, grâce à l'action d'enzymes des métabolismes des levures et des bactéries ou grâce à des mécanismes d'hydrolyse chimique. L'ajout d'enzymes exogènes de type glycosidases pendant les étapes de vinification peuvent également permettre de libérer ces arômes (Lund and Bohlmann, 2006; Pogorzelski and Wilkowska, 2007; Subileau et al., 2008; González-Barreiro et al., 2015; Parker et al., 2018).

Tout au long de la vie du vin, les arômes vont évoluer et être révélés, pour certains, après plusieurs années de vieillissement. Les arômes et molécules impliquées dans le vieillissement qualitatif des vins rouges de Bordeaux seront présentés dans la partie 1, chapitre 1, paragraphe 2.4 (page 34) de ce manuscrit. La question de la genèse des arômes formés au cours du vieillissement, grâce aux molécules d'intérêts libérées depuis des précurseurs ou bien naissantes par des réactions chimiques à partir d'autres composés, sera abordée dans les parties 2 et 3 de cette thèse.

2.2.3 Le bon déroulement des fermentations

Lorsque le raisin est entre les mains du vinificateur, commence la transformation en vin. Le vinificateur a la responsabilité de conserver et révéler le potentiel qualitatif du raisin. Le but de l'œnologie est de donner des clés au producteur pour obtenir le meilleur vin possible, possédant toutes les qualités qui étaient inscrites dans les raisins dont il est issu (Peynaud, 1980). Le vinificateur doit transformer le raisin en vin en lui permettant d'exprimer ses qualités et sans l'endommager. Il s'agit d'un exercice périlleux qui demande technique et humilité.

2.2.3.1 La fermentation alcoolique

Une fois les raisins triés, la fermentation alcoolique va entamer la première étape de transformation : c'est la vinification à proprement parler. Dans un premier temps, l'action des levures, majoritairement *Saccharomyces cerevisiae,* va transformer le sucre en alcool. Cependant, la fermentation alcoolique est beaucoup plus complexe car les milliards de levures vont également fabriquer, à partir de substances du raisin et par le biais des nombreuses enzymes dont elles disposent, des produits dits secondaires, qui entrent directement ou indirectement dans la composition de l'arôme du vin jeune (Coulon and Abbal, 2013).

Un indicateur à maitriser pour induire une bonne cinétique fermentaire est la teneur des jus en azote assimilable. Composé à la fois d'azote minéral (cation ammonium) et d'azote organique (acides aminés et petits peptides), celui-ci est synthétisé dans la baie de raisin et lié à la disponibilité de l'azote dans les sols. Il est possible de le quantifier dans les moûts juste avant le début de la fermentation alcoolique. La teneur en azote assimilable dans les moûts a des conséquences importantes sur la qualité du vin. Trop faible, elle entraînera la présence d'une faible population de levures donc une faible vigueur de fermentation et un risque de fermentations languissantes, voire même d'arrêts. La production des métabolites secondaires, dont les arômes, sera également affectée avec la formation de composés volatils indésirables tels que des « défauts de réduction » aux odeurs d'égouts. À l'opposé, l'excès d'azote assimilable pourrait servir de nutriments pour des microorganismes de déviation et entraîner la formation de composés volatils non désirés tels que les phénols volatils (Bell and Henschke, 2005). Il s'agit d'une question d'équilibre qui pourra être rectifié par le vinificateur à la lumière des analyses chimiques et sensorielles.

Les pratiques courantes sont l'ajout d'azote minéral par des préparations de phosphate d'ammonium ou bien un ajout indirect, et moyennement maitrisé, d'azote organique par le biais de l'ajout d'autolysats de levures. Ces pratiques sont guidées par quelques travaux scientifiques mais aussi par l'empirisme (Bely et al., 1990, 1994). L'ajout d'autolysats de levures a été étudié il y a quelques années dans une optique de limiter la présence d'acides gras toxiques pour la levure ou bien dans l'optique de stimuler les fermentations alcoolique et malolactique (Lafon-Lafourcade et al., 1984; Larue et al., 1984; Lonvaud-Funel et al., 1985). Depuis qu'il est autorisé, peu de travaux récents ont été publiés pour comprendre leur influence sur la révélation du potentiel œnologique du raisin. D'autre part, les vins rouges sont des vins de macération. Les grands vins procèdent à une extraction sensible, sélective et partielle pendant la fermentation alcoolique et pendant la phase de cuvaison, au cours de laquelle, des constituants des parties solides de la grappe (rafle, pellicule, pépin) se dissolvent. L'extraction est dirigée tant que faire se peut par le vinificateur lors des étapes de mise en contact des phases solides et liquides (remontages, pigeages par exemple) et de macération pré et post-fermentaire. Ces étapes permettront d'extraire les éléments responsables de la couleur et de la structure du vin mais aussi de libérer les éléments sapides et aromatiques (tanins, anthocyanes, composés volatils libres ou liés, autres molécules) (Merida et al., 1991; Sun et al., 1999; Marchal et al., 2011; Cretin et al., 2019). Le cas échéant, il pourra utiliser les vins issus du pressurage des marcs pour parfaire les assemblages.

2.2.3.2 La fermentation malolactique

La quasi-totalité des vins rouges subissent une seconde fermentation : la fermentation malolactique (FML). Au cours de cette FML, les bactéries lactiques, majoritairement l'espèce *Oenococcus oeni,* décarboxylent l'acide malique en acide lactique. Certains expriment que les vins sont plus « souples » grâce à l'acide lactique qui a un goût acide moins prononcé que l'acide malique. D'autre part, la FML

contribue à la stabilisation biologique des vins et reste une étape essentielle à la vinification des vins rouges (Davis et al., 1985; Ribéreau-Gayon et al., 2012b; Coulon and Abbal, 2013).

Dans les vins rouges, la FML modifie les caractéristiques organoleptiques en augmentant les notes « lactiques » et en produisant d'autres composés aromatiques qui contribuent à la complexité des vins (de Revel, 2002). Du point de vue aromatique, il est montré que la FML modifiera la note fruitée, mais le sens de ces modifications n'est pas universel. L'intensité de la note fruitée pourrait augmenter, diminuer voire être inchangée après la FML. De plus, ces conséquences pourraient parfois s'observer après quelques années de vieillissement (Antalick, 2010). Les esters sont les molécules qui interviennent dans la note fruitée des vins rouges et sont produits en grande partie pendant la FA. Leurs teneurs seraient très dépendantes de la souche de levure. Peu d'effets des souches de bactéries lactiques ont été observés sur la concentration des composés responsables de la note fruitée des vins rouges. Mais la FML interviendrait comme révélateur de l'arôme fruité (Gammacurta, 2014). Lorsque celle-ci est effectuée en présence de bois de chêne, les notes boisées sont augmentées en lien avec l'extraction de composés du bois par les bactéries (de Revel et al., 2005; Bloem et al., 2008; Slaghenaufi, 2012). L'effet de la FML en barrique sur l'arôme du vin est conséquent, notamment par la hausse des notes boisées, grillées, fumées épicées surtout ressenties dans les premiers mois de l'élevage du vin (de Revel, 2002). Il s'agit d'un processus bien connu du point de point de vue des microbiologistes (Lonvaud-Funel, 2010; Lonvaud-Funel, 2015), récemment maitrisé par les vinificateurs et très partiellement connu par les chimistes des arômes.

La FML constitue donc une étape charnière qui termine le processus fermentaire et entame le processus d'élevage.

2.2.4 Les arômes présents dans le vin jeune

Les arômes présents dans le jeune vin sont issus du raisin et des fermentations. La fermentation alcoolique permet la formation de composés de type alcools dits « supérieurs » (alcools ayant plus de 2 atomes de carbone) et esters. Les esters éthyliques d'acides gras et les acétates d'alcools supérieurs sont les deux familles majoritaires. L'étude de ces esters a longtemps été délaissée car, au regard des teneurs et des seuils de perception olfactifs, il était considéré que ces composés n'avaient pas d'impact direct sur l'arôme des vins et, par raccourci de raisonnement, pas d'impact du tout. Cependant, nous savons aujourd'hui que les esters sont impliqués dans de nombreuses interactions perceptives et qu'ils sont le siège de l'arôme fruité des vins rouges (Pineau et al., 2009; Lytra et al., 2012a, 2015; Cameleyre et al., 2017).

La formation de ces esters est très dépendante de la composition des jus ainsi que des espèces et souches de levures impliquées dans la fermentation alcoolique (Saerens et al., 2006, 2008; Sumby et al., 2010; Gammacurta, 2014; Trujillo, 2018). Ainsi, d'un point de vue qualitatif, tous les vins ont les mêmes

esters. Seules leurs proportions peuvent varier en fonction du type de vin élaboré ainsi que des âges des vins (Antalick et al., 2014).

La fermentation malolactique produit de nombreux composés carbonylés dont le plus abondant est le diacétyle, ce composé peut modifier l'arôme fruité des vins grâce à ses notes « lactées » et « beurrées » (Rankine et al., 1969; de Revel, 1992; Lytra et al., 2012a). Les proportions de certains esters sont également modifiées pendant la FML et cela affecte l'arôme fruité des vins. Cependant, la variabilité de l'activité métabolique bactérienne ne permet pas de démontrer une unique tendance (Antalick et al., 2012).

2.2.5 L'élevage des vins en barrique

L'élevage des vins rouges est l'étape post-vinification qui regroupe les phases de travail, de traitement et de transformation du vin ayant pour objectif d'en améliorer la stabilité, d'affiner et compléter ses caractères gustatifs, somesthésiques et olfactifs afin d'assurer et de fixer son potentiel qualitatif intrinsèque (Vivas, 2014). On entend par stabilité, la stabilité tartrique et polyphénolique du vin acquise grâce à des phases de clarification mais aussi à l'oxydation ménagée liée à l'élevage. Le vin paraît plus limpide grâce aux dépôts et débris éliminés par soutirage.

De plus, dans le cas d'un élevage en barrique ou en présence de bois, les échanges entre le bois et le vin vont permettre la dissolution des composés volatils et non volatils dans le vin. Les composés non-volatils ont des capacités de réaction avec l'oxygène. Les échanges entre l'oxygène et le vin au travers des barriques permettront d'apporter une micro-oxygénation qui favorisera certains mécanismes chimiques notamment de modification perceptible de la couleur des vins (Qiu, 2015; Quaglieri et al., 2017; Ghidossi et al., 2018). L'apport de l'oxygène permettra aussi de créer des réactions de polymérisation des tanins par l'éthanal, augmentant ainsi leur degré de polymérisation ce qui abaissera l'astringence des vins. Les dégustateurs décriront un vin plus « rond », moins astringent avec des tanins plus « soyeux » (Coulon and Abbal, 2013; Vivas, 2014; Michel et al., 2016). L'élevage des vins est aussi le moment où le bois apportera des substances au vin qui vont jouer sur l'équilibre gustatif. Ces substances peuvent apporter à la fois de la sucrosité et de l'amertume (Marchal et al., 2013, 2015; Cretin et al., 2015; Gammacurta et al., 2019; Winstel, 2019; Gammacurta et al., 2020).

Enfin, le contact du bois va aussi transmettre au vin des composés volatils qui apportent des notes « torréfiées », « boisées », « vanillées », « épicées ». Généralement, ces notes aromatiques sont plus ou moins marquées en fonction de la chauffe de la barrique et accompagnent les notes déjà présentes dans le vin. Elles apportent de la richesse, de la complexité et de la saveur (Rapp and Mandery, 1986; Spillman et al., 2004; Jarauta et al., 2005; Garde-Cerdán and Ancín-Azpilicueta, 2006; Prida and Chatonnet, 2010; Styger et al., 2011). Typiquement, après cette étape, les caractères fruités originaires du raisin ou issus des fermentations s'harmoniseront avec le caractère « boisé » apporté lors de cette étape. Il a récemment été démontré que certains composés issus de barriques faiblement chauffées sont

impliqués dans des effets perceptifs qui augmentent ce caractère fruité des vins (Cameleyre et al., 2020). Une description plus détaillée et spécifique des composés présents dans les vieux vins rouges de Bordeaux ainsi que leur évolution au vieillissement sera présentée dans la partie 1, chapitre 1, paragraphe 2.4.2, page 36.

L'étape d'élevage est une étape de maturation guidée du vin. Elle nécessite de nombreux traitements (soutirages, collage, filtration, stabilisation de la matière colorante, stabilisation tartrique) afin de préparer les vins à la mise en bouteille (Vivas, 2014). L'élevage des vins rouges en barrique sur une période de plusieurs mois est le schéma traditionnel que suivent les grands vins rouges de Bordeaux. La durée de l'élevage, l'importance de l'aération mise en jeu par les soutirages, la position des barriques, le contrôle de température des chais, la valorisation des vins de presses pour la réalisation des assemblages ainsi que d'autres critères sont adaptés par les vignerons afin de valoriser le terroir. Il est de sa responsabilité d'adapter les pratiques afin de garantir la qualité de la dernière étape de l'évolution du vin : son vieillissement en bouteille.

2.3 Le vieillissement du vin : vers un état d'apogée… ou de déclin

Parfois les amateurs de vins et vinificateurs considèrent que le vieillissement débute à la fin des étapes fermentaires incluant la période d'élevage, d'autres considèrent que le vieillissement débute à la mise en bouteille. Dans cette thèse, pour des raisons pratiques, nous considèrerons la seconde option.
La qualité des grands vins est intimement liée à leur aptitude au vieillissement. Le vin évoluera lentement dans un environnement, cette fois-ci, plutôt réducteur sans apport d'oxygène (ou très peu au travers du col de la bouteille) et sans intervention de l'homme (autre qu'un accident d'exposition à la lumière ou à la chaleur). Le vieillissement est, on l'espère, une évolution du vin vers une qualité organoleptique supérieure à celle qu'il avait au départ, à condition de ne pas attendre « trop » longtemps. Une des questions récurrentes de l'amateur de vin à l'expert réside dans la définition de ce « trop » : « quand dois-je boire ce vin ? ». Pour les meilleurs vins, exempts de défauts, cette période correspond à une augmentation de la complexité et de la « finesse » des odeurs et des saveurs. L'ensemble harmonieux des odeurs caractérisées par une large palette de nuances où chacune d'entre elles est difficilement perceptible individuellement crée un phénomène aromatique polymorphe et complexe que l'on nomme « bouquet de vieillissement des vins » (Peynaud and Blouin, 2013).

2.3.1 Conditions et équilibre d'oxydo-réduction nécessaires pour l'évolution qualitative des vins

L'évolution des vins dans un environnement qualifié de « réducteur » par les professionnels évoque ici une notion délicate quant à la gestion de l'équilibre d'oxydo-réduction (ou équilibre rédox) du vin. Des conditions trop « réductrices » peuvent favoriser l'accumulation de notes défectueuses « de réduction » dans les vins. Les notes de « chou », « œuf pourri », typiques des défauts de réduction vont masquer les notes fruitées des vins (Mestres et al., 2000a; Ugliano et al., 2012). *A contrario*, un excès d'oxygène au cours de la période de vieillissement en bouteille, peut conduire à un vieillissement prématuré des vins, caractérisé par des notes de « fruits cuits », « pruneau », « figue », altérant également les notes de fruits frais (Pons et al., 2008, 2013). L'évolution qualitative des arômes se tiendra alors dans un milieu où les réactions d'oxydation et de réduction seront équilibrées sans pour autant que les scientifiques ne soient encore capables de proposer des indicateurs chiffrés fiables, révélateurs des phénomènes opérants dans le vin (Danilewicz, 2012; Danilewicz et al., 2019). Les valeurs limites proposées sont donc très discutables car elles sont liées à la matrice et aux méthodes de mesure. De plus, les phénomènes ne sont pas faciles à relier au potentiel de garde. Aucune réelle étude n'a été publiée incluant une évaluation des vins après plusieurs années de vieillissement en cave. Certains vins à « fort potentiel » ne vont pas être significativement altérés par des conditions oxydantes et d'autres à « faible potentiel » seront altérés quelles que soient les conditions de garde. Il reste fort à apprendre sur cette période de garde en lien avec la résistance à l'oxydation.

Le type de bouchage est un des facteurs important mais complexe. Le bouchage liège est couramment utilisé comme obturateur des vins fins. Au cours des deux premières années de conservation du vin, la dissolution de l'oxygène apportée à l'embouteillage ainsi que la faible quantité diffusée au travers du bouchon en liège, permettra la stabilisation de la matière colorante ainsi que l'évolution des caractères organoleptiques (Kahn, 2000; Lopes et al., 2006, 2007; Silva, 2011). D'autre part, le vieillissement des vins est réalisé en cave, bouteilles à l'horizontale dans un environnement à température modérée, constante et avec une faible luminosité. Les travaux de Maujean et al. (1978) ont montré la dépréciation des vins de Champagne par l'action de rayons lumineux. Ensuite, la température et l'hygrométrie de la cave de stockage sont aussi deux éléments importants qui vont jouer sur la rapidité des réactions chimiques d'évolution du vin. Dès lors, une température aux alentours de 12 à 15°C, l'humidité de l'ordre de 70% et la position des bouteilles couchée sont des techniques souvent adoptées. Cependant, ces observations empiriques n'ont jamais fait l'objet d'études scientifiques pour déterminer le couple température/hygrométrie idéal pour la conservation de chaque typologie de vins. Une chose est certaine, étant donné que la variabilité des bouchons en liège est supérieure à celle des bouchons synthétiques, chaque bouteille de vin est un cas particulier. Même si le vin jeune est identique, la température de conservation du vin, les conditions de stockage et la qualité du bouchage entraînent notamment des différences de qualité du bouquet.

VERSION DE DIFFUSION

Il est nécessaire que le vinificateur, mais aussi les acteurs qui acheminent et commercialisent les vins, soient particulièrement attentifs à cette dernière étape de la vie du vin.

2.3.2 Évolution de la composition du vin au cours du vieillissement

La période du vieillissement est favorable à de lentes réactions chimiques. L'aspect du vin change, sa couleur évolue par modification de la structure des anthocyanes (dont la couleur évolue du mauve au rouge tuilé) (Zeng, 2015). La structure des tanins subi également des réarrangements. Ces lentes réactions vont être responsables des changements visuels et organoleptiques des vins au vieillissement (diminution de la sensation d'astringence, augmentation de la teinte des vins par exemple). Le vieillissement du vin en bouteille engendre également de nombreuses réactions chimiques modifiant l'aspect aromatique du vin jeune vers des notes plus évoluées et complexes (Marchand, 2002).

2.3.2.1 Conservation des composés aromatiques déjà présents

Pendant le vieillissement, les arômes des vins sont modifiés par de nombreuses réactions qui dépendent de la composition du vin, des teneurs en SO_2, du taux d'oxygène, du pH, de la température, des conditions et du temps d'élevage par exemple. L'environnement acide du vin favorise des réactions d'oxydation, de cyclisation ainsi que des hydrolyses et formation de nouveaux esters (Díaz-Maroto et al., 2005; Antalick et al., 2014; Slaghenaufi and Ugliano, 2018). Les réactions enzymatiques seraient possibles mais non étudiées pour le moment. Le vieillissement des vins forme également des aldéhydes qui peuvent, pour certains (cas de l'éthanal), masquer l'arôme naturel du vin (Silva Ferreira et al., 2003; Jackson, 2014). Également, le vieillissement permet une hydrolyse des précurseurs glycosylés non volatils provenant du raisin (Winterhalter, 1991; Winterhalter and Skouroumounis, 1997; Skouroumounis and Sefton, 2000).

2.3.2.2 Formation de nouveaux composés et naissance du bouquet de vieillissement

Des composés autres que des glycosides ou des précurseurs *S*-conjugués sont présents dans le raisin et sont métabolisés pendant la fermentation alcoolique. Des composés tels que des acides aminés, des peptides ou des protéines sont retrouvés dans les vins et sont, en réalité, des précurseurs non volatils de composés volatils qui vont être révélés pendant le vieillissement des vins. Si les acides aminés sont soufrés (telle que la cystéine) alors les produits pourraient l'être aussi. Les composés soufrés possèdent une large gamme de descripteurs aromatiques qui peuvent être perçus dans les vins comme agréables ou désagréables en fonction de la nature des composés présents et/ou de leurs teneurs (Waterhouse et al., 2016). Il a été observé que des composés α-dicarbonylés présents dans le vin peuvent réagir avec les

acides aminés (notamment la cystéine) pour former des hétérocycles aromatiques aux odeurs caractéristiques de « café torréfié », « noisette grillée », « popcorn » (Marchand et al., 2000, 2011).

L'évolution des arômes et la révélation d'autres composés aromatiques de manière lente dans l'environnement de la bouteille entraîne une évolution du vin vers son état d'apogée. Selon Peynaud, un maximum d'intensité des arômes de vieillissement s'acquiert après « quelques années » de garde sous verre sans pour autant préciser l'ordre de grandeur chiffré de l'adverbe « quelques » (Peynaud and Blouin, 2013). Le développement du bouquet de vieillissement est une propriété aromatique intrigante qui fait la signature des grands vins de garde, puisque le bouquet de vieillissement est associé à une image prestigieuse (Langlois, 2010).

2.3.3 L'estimation d'un potentiel de « garde » (ou de vieillissement)

Jusqu'à présent, nous avons évoqué quelques clefs de réussite de l'élaboration de vins de qualité qu'utilisent les vignerons chaque année. Les qualités du raisin et des vins jeunes sont des facteurs indispensables pour entamer une maîtrise correcte de l'évolution de la composition des vins. Ces facteurs peuvent donner une indication au vigneron sur la possible capacité du vin à vieillir. Cependant, l'estimation exacte d'un potentiel de « garde » de son vin semble plus compromise. Le travail du praticien en œnologie est, bien souvent, une tâche de projection. Il s'appuie sur les données d'analyse chimique et de dégustation pour prévoir ce que deviendra le vin. L'expérience reste centrale sur sa capacité à définir si le vin va conserver ses qualités organoleptiques avec le temps. En revanche, aucune réponse claire ne peut être donnée par le professionnel à la question récurrente du consommateur : **« Quand-est-ce que je dois ouvrir ma bouteille de vin ? »**. Le professionnel se demandera chaque jour ce que deviendra son vin après les étapes d'élaboration de celui-ci, sans pour autant définir le moment idéal pour le déguster. De plus, il n'existe à ce jour, aucun guide, aucune formation d'aide à la « dégustation projective » et aucun moyen analytique de prédiction d'un potentiel de garde (Le Menn et al. - en préparation). Dans ce travail de thèse, nous essaierons d'apporter une pièce à l'édifice sur cette théorie de « potentiel de vieillissement » au travers d'indicateurs moléculaires.

Des écrits basés sur des observations empiriques expliquent certains phénomènes qui peuvent orienter les professionnels sur la connaissance de la capacité de vieillissement de leurs vins. Ces écrits vont constituer le point de départ à notre réflexion.

1) Peynaud et Blouin spécifiaient que « *La connaissance du millésime donne une première indication sur la qualité possible du vin en bouteille. Chaque millésime aura son type, son évolution, sa réputation, sa cotation. Le millésime fait la personnalité du vin.* » (Peynaud and Blouin, 2013). Même si nous savons aujourd'hui qu'il n'est pas le seul contributeur à la personnalité du vin, le millésime introduit un facteur

de variabilité qu'il importe de prendre en compte dans l'estimation de la qualité du vin et du potentiel de garde.

2) D'autre part, une distinction des vins prétendus à la garde est souvent effectuée selon le facteur « terroir ». Des différences de jugement de potentiel de garde est effectué entre les « grands vins » et les « seconds vins » d'un même cru (Dubourdieu, 1992). En effet, il est prétendu que les terroirs les plus riches sont de composition plus dense et produiraient des vins plus qualitatifs donc jugés plus aptes à vieillir. Cela est peut-être lié à l'état d'oxydo-réduction du milieu car les vins jugés les plus qualitatifs ont beaucoup de substances oxydo-réductrices générant un équilibre fragile que le vigneron se doit d'assurer (Peynaud and Blouin, 2013).

Ces notions subtiles et délicates impliquent que le problème de l'estimation du potentiel de « garde » ou de « vieillissement » des vins n'est ni clair, ni résolu. La recherche scientifique en œnologie tente de comprendre ce phénomène de « bouquet de vieillissement » afin de fournir des outils de compréhension et de prédiction de ce développement hautement qualitatif.

3. OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

À la lecture des données scientifiques et techniques, nous comprenons que le bouquet de vieillissement, n'est ni aisé à décrire, ni à comprendre. Jackson (2016), défend aussi cette idée affirmant que *« la durée de conservation d'un vin est plus complexe que dans la plupart des autres produits, car il peut comprendre des points de vue sur la durée pendant laquelle le vin conserve sa saveur initiale, combien de temps il faut pour que le vin s'améliore pour atteindre un certain point ou plateau idéal - son potentiel de vieillissement - ou combien de temps le vin reste commercialement acceptable »*. Peynaud (1980) eu aussi évoqué cette idée plus tôt, en indiquant que *« la qualité générale des vins est conditionnée par leur arôme primaire puis l'évolution vers le bouquet. C'est un des phénomènes les plus impressionnant de l'œnologie est l'un des plus mal connu »*.

De ce fait, les vins rouges de Bordeaux, réputés pour leur potentiel de garde, sont de bons candidats pour l'étude du bouquet de vieillissement. D'ailleurs, des premiers travaux se sont intéressés à la définition sensorielle, aromatique et chimique du bouquet de vieillissement de ces vins (Picard, 2015). Alors, même si le bouquet de vieillissement ne se date pas, les notes odorantes et marqueurs moléculaires indispensables à l'apparition du bouquet commencent à être connus.

En conclusion de cette partie, la question à laquelle nous nous devons de répondre serait : « **Comment le vieillissement qualitatif des vins rouges de Bordeaux est conditionné au cours de la jeunesse du vin ?** »

Pour y répondre, nous investiguerons le lien entre les « arômes » et le « terroir ». Nous proposons de travailler avec deux objectifs principaux :

- comprendre quelle/s réalité/s moléculaire/s recouvrent le vieillissement qualitatif dans les différents crus du bordelais étudiés ;
- identifier les facteurs viticoles et œnologiques qui influencent la genèse du bouquet de vieillissement.

Notre étude est construite en trois axes.

- **Un premier axe, sensoriel et analytique,** permettra de définir les caractéristiques aromatiques et moléculaires du bouquet de vieillissement de plusieurs grands crus appartenant à plusieurs AOC du vignoble bordelais. Ce travail permettra d'avancer sur la connaissance de la composition des vieux vins de qualité. Il pourra également définir la typologie du bouquet de vieillissement des sous-régions de l'espace bordelais et désigner les motifs aromatiques et moléculaires de ressemblance et de différenciation entre les crus par l'étude de « verticales » de vieux vins. Cet objectif affinera la définition générale du bouquet au regard des différents terroirs du vignoble de Bordeaux.

- **Un deuxième axe, agronomique et analytique,** permettra de désigner les précurseurs potentiels des molécules du bouquet de vieillissement et de comprendre comment ces précurseurs se comportent suivant les différents terroirs où la vigne est implantée et lorsqu'elle est soumise à certaines contraintes hydriques ou azotées. Les effets du sol, du cépage, et du millésime sur la genèse des marqueurs du bouquet de vieillissement seront les premiers objectifs de l'étude. Ce deuxième axe nous permettra de comprendre comment la gestion de la production de raisins et vins peut influencer la typologie du bouquet des grands vins de garde.

- **Un troisième axe, agronomique, microbiologique, analytique et sensoriel,** permettra d'étudier les variations des teneurs d'une molécule essentielle au bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux lors de sa genèse dans le raisin jusqu'au vin. Son développement lors du vieillissement du vin sera analysé ainsi que ses effets sensoriels. Ce dernier objectif nous permettra d'établir un lien entre le raisin et les vins vieux.

Première partie

***

LE VIEILLISSEMENT QUALITATIF DES VINS

Chapitre 1. État de l'art : l'identification du vieillissement qualitatif des vins rouges

1. VIEILLISSEMENT QUALITATIF : CONCEPT SENSORIEL, TYPICITÉ ET EXPERTISE

1.1 Notion de qualité des vins

La notion de qualité est, dans notre cas, très intimement liée à la capacité des vins à vieillir tout en gardant les caractères typiques de son terroir. Au cours de la conservation d'un vin en bouteille, on reconnait un vieillissement qualitatif lorsque le vin conserve une certaine typicité tout en acquérant une complexité aromatique et en conservant une jeunesse apparente. Tout cela nécessite, bien évidemment, l'absence inconditionnelle de défauts qui, par définition, masquent les attributs fruités du vin et donc les caractères du raisin.

Barry Smith, philosophe, amoureux du vin et spécialiste des questions liées au sensoriel, décrit la qualité à l'aide de quatre dimensions intrinsèques. La première serait la sensation de plaisir. Cette notion de plaisir serait d'ailleurs la plus importante, puisqu'un vin qualitatif est souvent décrit par des termes de « plaisir », « prendre plaisir », « agréable ». La deuxième dimension serait le « gustatif » au sens large. Il regroupe un grand nombre de subdivisions plus ou moins bien décrites telles que le goût proprement dit, la « finesse », le « corps », « l'équilibre », la « concentration » et d'autres sensations perçues en bouche. La troisième dimension est paradigmatique, cela signifie que le vin de bonne qualité doit refléter l'endroit où les raisins ont été cultivés et où le vin doit être à la hauteur d'un idéal indépendant et intemporel. Enfin, la quatrième dimension serait une dimension potentielle, c'est-à-dire que le vin idéal doit pouvoir vieillir et s'améliorer en bouteille (Smith, 2007). Ainsi, cette définition de « la qualité » est complexe, large et cérébrale.

La qualité perçue d'un vin est bien souvent variable entre les dégustateurs en fonction de : leur expérience, leur niveau d'expertise et leurs projets pour le produit (Charters and Pettigrew, 2006; Hopfer and Heymann, 2014). Cependant, on remarque que le bouquet de vieillissement est souvent cité dans les discours d'auteurs évoquant la qualité. Par exemple, Jackson (2016), décrit la qualité comme *« la propriété d'un vin développant une complexité, une harmonie et une subtilité aromatique, révélant une personnalité propre et un bouquet de vieillissement »*. D'autres auteurs décrivent que le goût, la finesse, l'équilibre, la complexité et l'intensité du bouquet de vieillissement définissent la qualité des grands vins (Verdú Jover et al., 2004; Smith, 2007; Parr et al., 2011). Enfin, le bouquet de vieillissement reste la signature de qualité des grands vins ayant un potentiel de garde (Langlois et al., 2010).

1.2 Typicité et concept sensoriel

1.2.1 Typicité

Par définition, la typicité est *« un caractère marqué* [d'un vin], *en rapport avec le terroir et la vinification »* (Le Robert). Le terme de « typicité » découle du mot « typique » qui, étymologiquement, provient du latin « *typicus* » lui-même issu du grec « *tupikós* ». Le sens de ces mots est « allégorique », c'est-à-dire qu'ils renvoient à l'expression d'une idée par une métaphore (image, tableau) animée et continuée par un développement. Le vin est considéré comme alimentaire et il est bien connu que la dégustation d'un vin associe la description des caractéristiques visuelles, olfactives et gustatives à des représentations, des références naturalistes et des images. Ainsi, cette représentation imagée mentale engage les stimuli cognitifs ainsi que l'évaluation de la correspondance avec l'image type (Tempere et al., 2014).

La notion de typicité est un concept de psychologie cognitive qui, d'après Rosch et Mervis (1975), correspond à la reconnaissance d'un objet comme étant représentatif de sa catégorie, partageant alors beaucoup d'attributs avec les autres membres de cette même catégorie et peu d'attributs avec les membres d'autres catégories. Mais l'appartenance à une catégorie n'est pas dichotomique (tout ou rien) mais un continuum ou gradient de représentativité. Certains éléments sont plus représentatifs que d'autres d'une catégorie en passant par des degrés de représentativité ou d'appartenance intermédiaires (Mervis and Rosch, 1981). Plus tard, Salette (1997), explique que la typicité d'un produit tel que le vin, est un modèle, une référence qui réunit au plus haut degré les propriétés sensorielles essentielles d'une catégorie.

En œnologie, le terme de typicité est relativement récent mais très utilisé, souvent de manière imparfaite, dans le lexique commun des acteurs de la filière. Pour certains auteurs, la typicité est utilisée pour caractériser des vins issus de différents terroirs, élaborés à partir de cépages, d'un sol et de techniques de vinification spécifiques (Sauvageot, 1994). D'autres expliquent que la typicité prend en compte le facteur humain et que cette notion résulte de la construction humaine (Casabianca et al., 2006). La typicité n'est pas toujours liée à un terroir et peut être expliquée par d'autres facteurs comme, par exemple, les procédés technologiques de vinification. Cette influence des procédés dans la notion de typicité est particulièrement importante pour les vins dits « spéciaux » (vins effervescents ou fortifiés par exemple). À l'inverse, la notion de terroir exige d'offrir une typicité au produit. En outre, la typicité n'est pas synonyme de qualité et il existe nombre de produits industriels au goût typique d'une marque mais qui n'ont ni qualité organoleptique ni même de qualité nutritionnelle (Cadot, 2006; Casabianca et al., 2006).

Dans le cas de la culture de la vigne et de la production du vin, nous espérons que bon nombre de pratiques reposent encore sur un socle solide de connaissances empiriques liées au terroir. C'est le cas des vins étudiés au cours de cette thèse. La spécificité des produits traditionnels (souvent protégés par des appellations d'origine) tels que les vins ou les fromages, provient d'une origine géographique délimitée, de l'utilisation de matières premières particulières et de la mise en œuvre de procédés respectueux de celles-ci. Les vins issus de ces

éléments constituent un « espace produit », qui permet d'attribuer des caractéristiques sensorielles uniques par rapport à d'autres produits similaires, tout en induisant des variabilités suivant l'effet millésime et le savoir-faire des professionnels. Le Fur (2010) enrichira la définition de la typicité en prenant en compte la convergence de cet espace produit et « l'espace sensoriel » des vins représentés. Il rapproche des critères purement sensoriels et des représentations mentales consensuelles de groupes d'humain de référence. C'est cette communauté, « porteur de savoir », qui assurerait la persistance de la typicité (Cadot, 2006; Casabianca et al., 2006). Ainsi, Dubourdieu (2012), définissait synthétiquement le concept de typicité des vins : *« Vins originaux, identifiables par le professionnel et l'amateur, associés à un terroir et difficilement copiables, reflétant une image contemporaine, aptes à la conservation et intégrant les choix humains à tous les stades de la culture de la vigne et de l'élaboration des vins. »*

1.2.2 Concepts sensoriels

Un concept désignera la représentation mentale d'une catégorie. En effet, la catégorisation est un processus par lequel différents éléments perçus comme similaires sont regroupés. Par exemple, la catégorie « vins rouges » rassemblera tous les éléments associés aux vins rouges. Le concept sensoriel désignera alors la représentation mentale d'une catégorie sensorielle désignée. Par extension, la typicité peut être considérée comme la proximité d'un produit avec un concept sensoriel. Jusqu'à présent, en œnologie, plusieurs études ont été menées sur les concepts olfactifs tels que le concept des « vins de garde », la typicité des vins d'Anjou Village Brissac, la « minéralité » des vins, la mise en évidence d'un espace sensoriel pour les vins de Chardonnay, les vins liquoreux et les vins rouges de la région de Bordeaux (Ballester et al., 2005; Sarrazin, 2007; Cadot et al., 2010; Pineau et al., 2010; Langlois et al., 2011; Rodrigues et al., 2015). Récemment, l'étude des concepts de vieillissement des vins et notamment du « bouquet de vieillissement des vins rouges de bordeaux » et du « vieillissement qualitatif des vins de réserve de Champagne » ont fait l'objet d'une même méthodologie d'étude pour définir une représentation mentale (concept) partagée par un panel (Picard et al., 2015a; Le Menn, 2018). Toutes ces études sont fondées sur l'observation d'échantillons représentatifs, partiellement représentatifs ou pas du tout représentatifs de la catégorie étudiée avec la contribution de groupes d'experts « porteurs de savoir ». C'est la comparaison de ces catégories de vins « typiques » ou « non typiques » qui vont permettre d'avancer sur la définition du concept par des mots puis par des molécules (Parr et al., 2007; Cadot et al., 2010; Pineau et al., 2010; Jaffré et al., 2011; Picard et al., 2015a; Schüttler et al., 2015; Rodrigue Silva, 2016; Le Menn, 2018).

1.2.3 Importance de l'expertise dans l'évaluation de la typicité des vins de qualité

La dégustation est une technique robuste lorsque des membres des panels sont formés pour décrire et évaluer des produits selon un exercice défini. Ils peuvent alors être qualifiés « d'experts ». L'expertise regroupe à la fois la connaissance et la compétence d'un « porteur de savoir », l'individu qui a une connaissance approfondie

d'un objet. En œnologie, « l'expert » fait, le plus souvent, référence aux professionnels qui possèdent à la fois des connaissances théoriques et des compétences perceptives liées à leur formation initiale, leur entraînement ou encore aux nombreuses dégustations qu'ils réalisent. Un autre aspect de leur expertise relève de leur aptitude à verbaliser et communiquer sur les propriétés sensorielles des vins (Langlois, 2010). Le jugement de typicité des vins est donc nécessairement réalisé par les experts ayant une connaissance du type d'échantillon présenté (Salette, 1997; Moio et al., 1993). Cependant, la catégorie « experts » du vin regroupe à la fois les producteurs de vin et personnels issus de la production, les chercheurs/enseignants en œnologie, les étudiants diplômés en viticulture et œnologie et les personnes ayant plus d'une dizaine d'années d'expérience dans le métier du vin (Parr et al., 2002). Il est possible de subdiviser cette catégorie pour en étudier les sous-groupes (Langlois, 2010; Rodrigue Silva, 2016) et ainsi, d'affiner l'évaluation des produits.

De nombreuses études se sont intéressées aux différences de performances perceptives entre « experts » et « novices ». Les capacités mentales et perceptives seraient plus développées chez les sujets experts que chez les novices. Plusieurs de leurs capacités sont étudiées.

- **Les aptitudes sensorielles :** les sujets experts ont subi un apprentissage perceptif qui les a familiarisés avec les odeurs et à leur reconnaissance (Chollet and Valentin, 2000; Parr et al., 2002, 2004; Ballester et al., 2008). De plus, les « experts » ont développé une connaissance des produits afin d'être capables de reconnaître l'impact des différentes pratiques culturales et œnologiques sur les caractéristiques sensorielles des vins (Solomon, 1990).
- **La mémorisation olfactive :** les experts auraient une mémoire olfactive supérieure à celle des novices. Leur apprentissage et l'acquisition de leur expérience leur permet de retenir les attributs sensoriels, d'avoir une bonne capacité à identifier les odorants (Hughson and Boakes, 2002; Tempere et al., 2016a).
- **La verbalisation :** les experts ont globalement une meilleure capacité de communication concernant les propriétés sensorielles des vins. Le vocabulaire utilisé par les experts est plus étendu et spécifique. De plus, les experts qui ont été formés collectivement à déguster des vins, ont acquis un lexique consensuel, ainsi ils se comprennent mieux et donc attribuent le même descripteur à la même odeur. Le vocabulaire spécifique et technique leur permet d'avoir un jugement des vins plus informatif, descriptif, consensuel et moins subjectif (Solomon, 1990; Chollet and Valentin, 2000; Hughson and Boakes, 2002; Valentin et al., 2003; Hopfer and Heymann, 2014; Honoré-Chedozeau et al., 2019).
- **La conceptualisation :** les experts ont, en plus de leur niveau de verbalisation, une meilleure organisation mentale qui leur permet d'avoir une représentation des concepts. Plusieurs études ont montré que les sujets expérimentés sont capables de s'accorder entre eux et partager une représentation commune de concepts sensoriels. Par exemple, Ballester et al. (2008) ont montré un bon accord entre les professionnels sur l'évaluation de la typicité des vins de chardonnay et de melon de Bourgogne. Ensuite, Parr et al. (2011) ont montré que les experts décrivent la complexité des vins avec un vocabulaire plus spécifique rattaché aux attributs techniques tels que le cépage, le sol, les pratiques de vinifications et distinguent la différence de complexité entre des vins rouges et des vins blancs. De

même, Langlois et al., (2011) expriment que les professionnels du vin sont capables d'extraire des propriétés communes du concept « vin de garde » et construisent des représentations communes. Enfin, Picard et al., (2015) et Le Menn (2018) ont permis de définir grâce au panel d'experts, les propriétés communes partagées par les professionnels concernant le concept de « bouquet de vieillissement » des vins rouges de Bordeaux et des vins de réserve de Champagne.

Le recours à un panel de professionnels de la filière viti-vinicole pour définir le concept de « bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux » a été mis en œuvre par Picard (2015). Le recours à ce type de panel était approprié du fait de la complexité du concept.

2. LE BOUQUET DE VIEILLISSEMENT DES VINS ROUGES DE BORDEAUX

2.1 Observations empiriques et premiers travaux sur la typicité des vins rouges de Bordeaux

Les vins rouges de Bordeaux sont réputés pour présenter un fort potentiel de vieillissement. Ils ont largement été dégustés, analysés et ont fait l'objet de nombreux travaux scientifiques. Tout d'abord, les arômes de fruits rouges et de fruits noirs ont été définis comme faisant partie de la typicité de ces vins (Pineau et al., 2010). Ces arômes, présents dans les vins jeunes, devront perdurer et s'intégrer au bouquet de vieillissement. Selon Émile Peynaud, *« savoir vieillir c'est conserver longtemps les vertus de la jeunesse »* (Peynaud, 1980). Ce caractère « frais » du fruité sera donc une qualité essentielle pour des vins qui ont évolué de manière qualitative et une composante nécessaire au bouquet. Comme nous l'avons évoqué précédemment, le vieillissement qualitatif apporte une intensification et une complexification de l'odeur. Cela induit des transformations et de l'harmonie définitive qui se fera avec la complicité du facteur temps. On en retient les observations empiriques de célèbres œnologues Bordelais qui disait que *« le bouquet, ce mélange de parfums complexes qu'exhale le vin vieux dans le verre (…). Le bouquet se traduit par un fondu, un liant olfactif »* (Peynaud, 1980).

Ce phénomène polymorphe et complexe n'avait jamais été étudié par les scientifiques jusqu'aux travaux de Picard en 2015. Le concept du bouquet de vieillissement a pu être partiellement défini par des mots, des odeurs et des molécules. Ses caractéristiques globales ont permis de poser des bases solides pour l'identification du bouquet par tous (professionnels, scientifiques, amateurs de vins) (Picard, 2015). En revanche, la richesse des terroirs bordelais, comme globalement définis dans la partie « contextualisation » de ce manuscrit, pourrait laisser imaginer l'existence de nuances dans l'expression du bouquet dans les divers espaces du terroir bordelais. À maturité, les différents vins pourraient présenter des caractéristiques aromatiques différentes du fait des cépages, sols, climats, techniques de vinifications et d'assemblage variables. La définition du bouquet de vieillissement pourra donc être nuancée en fonction des crus et des espaces géographiques. Cela fait partie de

la richesse du bordelais, les vins de Gironde constituent un tout cohérant dans lequel les terroirs ont loisir à s'exprimer. Nous tenterons, dans ce travail, de décrire la typologie des crus étudiés.

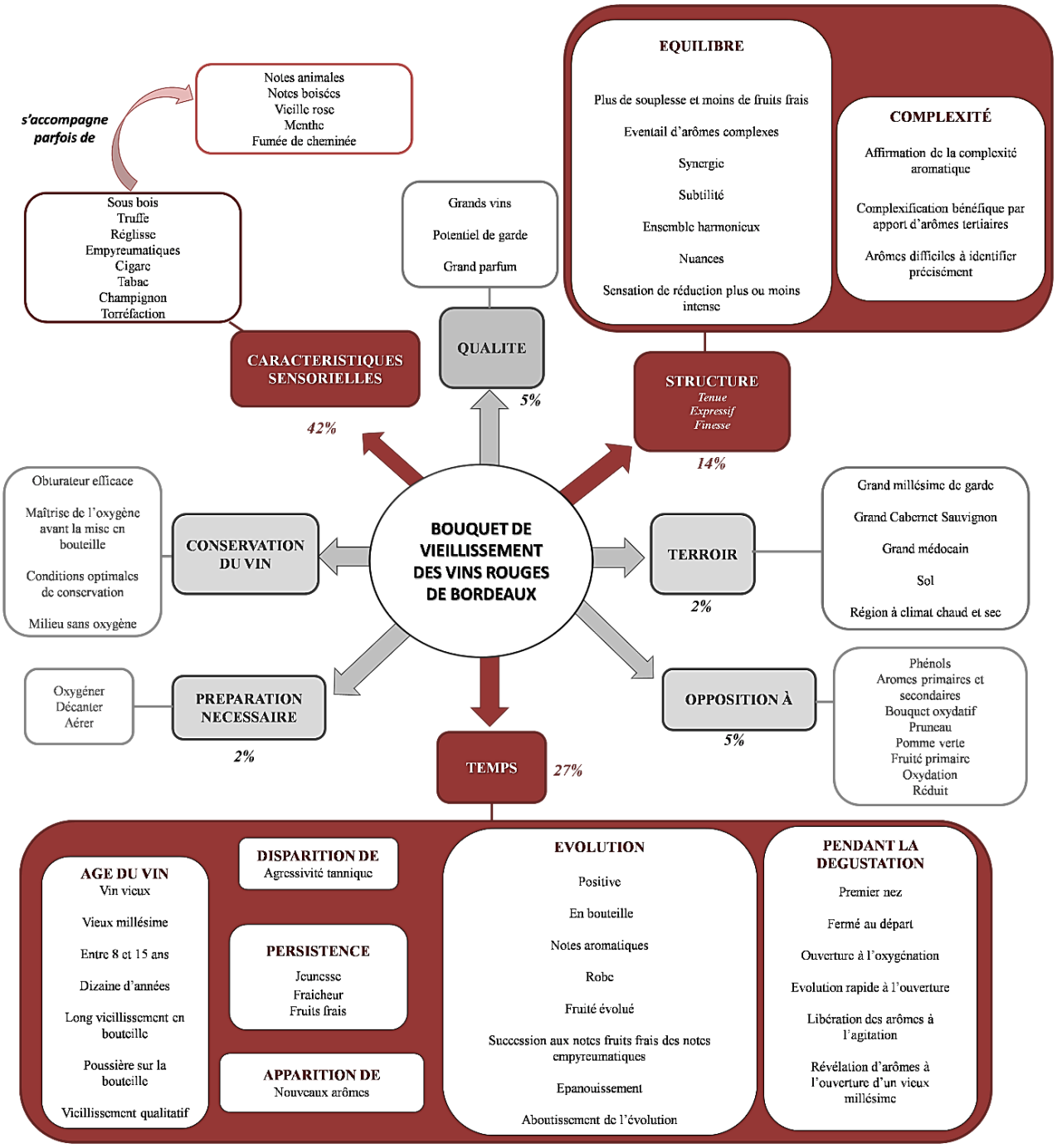


Figure 2. Représentation mentale du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux selon Picard (2015).

2.2 Concept sensoriel du bouquet de vieillissement

2.2.1 Définition conceptuelle

Tout d'abord, lors de l'étude de Picard (2015), la première étape a été d'étudier la représentation conceptuelle du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux par les professionnels. Au sein d'un large panel, un groupe de professionnels expérimentés partageaient une idée du bouquet de vieillissement autour de termes liés à la qualité de vieillissement et non un vieillissement défectueux. À partir de leurs descriptions écrites, huit catégories de mots ont été extraites pour définir le concept de bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux. Les « propriétés sensorielles », la « structure du vin », et la notion de « temps » sont les catégories les plus représentatives du bouquet de vieillissement. S'en suivent les autres catégories « qualité », « conservation du vin », « préparation nécessaire », « opposition à » et « terroir », citées moins fréquemment (**Figure 2**). Au sein de ces huit catégories sémantiques, des sous-catégories sont référencées. Elles nuancent les propriétés que le panel jugeait nécessaire à l'expression du bouquet de vieillissement dans les vins (Picard et al., 2015a). Parmi elles, on notera les propriétés « grands vins », « potentiel de garde », « subtilité », « dizaine d'années », « persistance fraîcheur », « sol », « grand millésime de garde ». Bon nombre de ces points confortent notre hypothèse selon laquelle la capacité d'un vin à développer un bouquet pourrait être conditionné dans les racines de la vigne.

2.2.2 Définition aromatique

Des dégustations de vieux vins rouges de Bordeaux ont été proposées à un panel de professionnels par Picard (2015). Cela a permis de vérifier d'une part, l'existence d'un consensus au sein d'un panel de professionnels sur l'évaluation de la typicité du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux et d'autre part, d'identifier les notes aromatiques associées à la typicité du bouquet de vieillissement des vins. Ce travail a permis de mettre en évidence que le concept de bouquet de vieillissement s'articulait autour des notes de « sous-bois », « truffe », « fruits frais rouges et noirs », « épicé », « réglisse », « menthe » et « grillé » (**Figure 3**).

La présence de notes « empyreumatiques », « boisées », « tabac », assez souvent exprimées par le panel qui établi un lien entre le bouquet de vieillissement et l'élevage des vins en barrique. Ceci sera évoqué dans le paragraphe 2.3.2 page 78. Ce caractère était également mis en évidence lors de l'étude du concept « vin de garde » par Langlois et al. (2010) et était évoqué plus tôt par Tominaga et al. (2003) pour décrire le bouquet des vins de Champagne. L'étude aromatique descriptive des vins de réserve de Champagne par Le Menn (2018) a également montré un lien entre le caractère empyreumatique et le vieillissement qualitatif. Dans ce cas, ce caractère est dissocié du boisage.

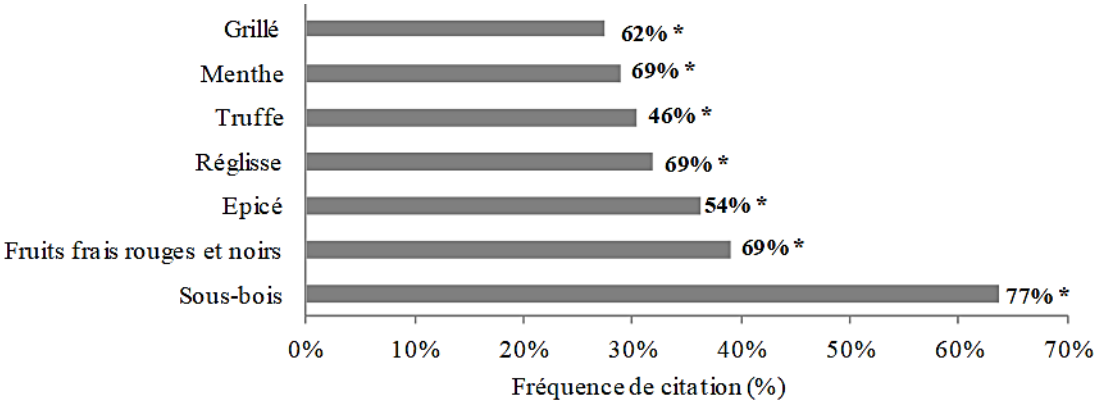


Figure 3. Descripteurs aromatiques les plus fréquemment cités (FO > 5%) pour décrire le bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux (Picard (2015)). Le pourcentage suivi de * correspond au pourcentage de dégustateurs ayant cité chaque descripteur.

2.3 Aspects méthodologiques pour l'évaluation sensorielle du concept de bouquet de vieillissement

2.3.1 Évaluation de la typicité du bouquet de vieillissement

Évaluer la typicité du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux revient à suivre la méthodologie initiée par les études sur les vins de chardonnay (Ballester et al., 2005). En effet, une évaluation directe de la typicité a été effectuée par des professionnels de la filière viticole bouguignonne. Leur objectif était de décrire les caractéristiques aromatiques des vins de chardonnay et ensuite identifier si les vins dégustés étaient typiques, moyennement typiques ou atypiques de ce cépage (Moio et al., 1993). Il a été démontré que les vins étudiés étaient organisés selon un gradient de typicité et non pas selon des catégories. Cela a permis l'utilisation d'une échelle continue allant de « mauvais exemple » à « très bon exemple » pour l'évaluation de la typicité des vins (Ballester et al., 2005, 2008). Depuis, cette méthodologie pour évaluer la typicité des vins a été étendue sur les vins de pinot noir de Bourgogne, de cabernet franc ou de chenin de Loire, de sauvignon blanc de Nouvelle-Zélande et même au bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux (Parr et al., 2007; Cadot et al., 2010; Pineau et al., 2011; Loison et al., 2015; Picard et al., 2015a). L'étude de Picard (2015), a permis d'identifier les vins les plus typiques ou les moins typiques d'une série afin de comparer leur composition chimique.

2.3.2 Description sensorielle quantitative

Afin de définir de manière rigoureuse l'appartenance des vins à un concept sensoriel défini, l'approche globale d'évaluation de la typicité nécessite d'être complétée par une approche plus spécifique de description sensorielle qualitative et quantitative. Pour cela, le recours à l'établissement de profils sensoriels est nécessaire

(Barthélémy, 2009). Dans un premier temps, le travail se base sur la génération libre de descripteurs aromatiques par un panel entraîné, lors de la dégustation de vins plus ou moins représentatifs du concept olfactif étudié. Les descripteurs générés sont ensuite discutés et ceux sélectionnés doivent être : *(i)* pertinents et représentatifs de la dimension sensorielle étudiée, *(ii)* discriminants entre les vins les plus typiques et les moins typiques, *(iii)* partagés par les membres du panel afin d'obtenir le maximum de consensus (Lawless and Heymann, 2010). Ensuite, une fois ces descripteurs sensoriels choisis, une évaluation de leur intensité sur une échelle continue doit être effectuée. C'est pour cela que l'on détermine cet exercice de « profil sensoriel quantitatif ». Le recours à un panel entraîné à la reconnaissance et l'évaluation des descripteurs sélectionnés est strictement nécessaire.

Cette méthodologie d'analyse par profils a largement été utilisée en œnologie pour décrire des vins issus de cépages ou terroirs différents (Heymann and Noble, 1987; McCloskey et al., 1996; Lund and Bohlmann, 2006; Hopfer and Heymann, 2014; Gros et al., 2017). Appliquée par Picard (2015), cette stratégie a permis de définir les caractéristiques odorantes des vins jugés typiques du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux pour ensuite rechercher les molécules liées aux odeurs du bouquet dans les vins étudiés.

2.4 Molécules impliquées dans le bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux

2.4.1 Absence de défauts

L'étude conceptuelle a montré que le vieillissement qualitatif implique l'absence stricte de défaut dans les vins. Ces défauts peuvent s'avérer être le signe de rejet d'un vin par le consommateur (Rapp et al., 1992, Waterhouse et al., 2016; McKay and Buica, 2020) ou bien être des molécules qui masquent le caractère fruité des vins (Romano et al., 2009; Tempere et al., 2016b, 2017). Les défauts dans les vins peuvent provenir : **1)** d'une contamination exogène au raisin/vin par le biais de l'air ambiant, des contenants, des bouchons ou encore de l'activité microbiologique extérieure au produit, **2)** de transformations biochimiques ou non-enzymatiques de composés du vin, **3)** d'une sous maturité du raisin (Waterhouse et al., 2016). Les molécules qui peuvent être à l'origine de défauts dans les vins sont de structures très diverses.

- Les composés de la famille des haloanisoles, comme le 2,4,6-trichloroanisole (TCA), sont issus de contaminations de type exogène causées par la dégradation microbienne d'halophénols présents dans les lièges des bouchons ou d'autres objets en bois présents à proximité des vins (caisses, charpentes etc.). Ces composés sont ensuite transférés depuis ces matériaux jusqu'aux vins (Rapp et al., 1992; Chatonnet et al., 2004; Barker et al., 2001). Très odorants (seuil de détection olfactifs de l'ordre du ng/L), ces composés sont ressentis comme malodorants, agissent comme « masque » de l'arôme fruité des vins et donc en affectent la qualité (Takeuchi et al., 2013; Tempere et al., 2017).
- La géosmine, aussi considérée comme un défaut d'origine exogène, est citée comme responsable du caractère « poussiéreux », « terreux » dans les vins (Chatonnet et al., 1994). Elle peut être synthétisée

par des consortium de microorganismes tels que des bactéries de type *Streptomyces*, des algues bleues, des micromycètes de type *Penicillium* ou même par des champignons comme *Botrytis cinerea.* De par son seuil de détection de l'ordre du ng/L, la géosmine peut apporter ce caractère « terreux » aux vins très désagréable (Chatonnet et al., 1994; Darriet et al., 2000; La Guerche et al., 2005).

- Les phénols dits « volatils » tels que le 4-éthylphénol et le 4-éthylgaïacol sont des composés produits dans les vins rouges, souvent lors de l'étape d'élevage, par bioconversion des acides hydroxycinnamiques présents dans les raisins par les levures d'altération *Brettamomyces bruxellensis* (Chatonnet et al., 1992; McKay and Buica, 2020). Malgré leurs seuils olfactifs plus élevés (400 µg/L en mélange) que les deux composés précédents ces molécules peuvent être « impactantes » car les vins peuvent contenir plusieurs centaines de µg/L d'éthylphénols. Leur présence peut marquer les vins d'odeurs caractéristiques « d'écuries », de « sueur de cheval », de « pharmaceutique ». Ce caractère « bretté » est reconnu comme un défaut majeur des vins car il agit en tant que « masque olfactif » et affecte les notes variétales et fruitées des vins (Rapp et al., 1992; Romano et al., 2009; San-Juan et al., 2011; Tempere et al., 2017).
- Les notes « végétales », « herbacées » dans les vins sont causées principalement par les défauts de maturité. Les composés responsables sont de la famille des pyrazines et notamment la 3-isobutyl-2-methoxypyrazine (IBMP) qui donne un caractère « poivron vert » caractéristique d'une sous-maturité (Rapp et al., 1992; McKay and Buica, 2020). Défaut endogène au raisin, l'IBMP provient d'une synthèse du composé à l'intérieur de la baie par méthylation de son précurseur 3-isobutylhydroxypyrazine (IBHP) (Harris et al., 2012; Mozzon et al., 2016). La concentration en IBMP dépend de nombreux facteurs viticoles (cépage, exposition des baies, vigueur, rendement, type de sol par exemple) et ses teneurs peuvent-être facilement gérables au vignoble grâce à un réarrangement de la canopée (Roujou de Boubée et al., 2000; Dunlevy et al., 2013; Plank et al., 2019). Avec un faible seuil de détection (de l'ordre d'une dizaine de ng/L), l'IBMP est un puissant composé qui peut affecter les vins par des notes végétales (Roujou de Boubée et al., 2000; Mozzon et al., 2016).

Le problème de ces composés « masques » est leur capacité à persister en bouteille même après de longues gardes (Waterhouse et al., 2016). C'est la raison pour laquelle l'absence de ces molécules sera vérifiée afin d'écarter les vins déviants de l'étude. En revanche, les phénols volatils sont souvent présents dans les vins de manière générale et il est rare qu'un vin rouge soit exempt de ces composés. Leurs teneurs étant de l'ordre de plusieurs dizaines (ou centaines) de µg/L, elles s'élèvent plus facilement au-delà des seuils de détection analytiques (par chromatographie). De même, l'IBMP a longtemps été rencontrée dans les cépages de type cabernet du bordelais et les teneurs déclinent que depuis le début des années 2000. Les vins comportant ces deux derniers défauts seront conservés dans l'étude dans la mesure où leurs concentrations ne sont pas trop élevées.

2.4.2 Composés aromatiques issus du bois de chêne

Les grands vins élevés « sous bois de chêne » vont acquérir une aromatique bien particulière qui permettra de compléter les qualités du vin. Lorsque les odeurs des composés volatils issus du bois de chêne sont parfaitement « fondues » avec les autres arômes du vin, ces composés contribuent à la richesse et à la complexité aromatique. Les vins sont alors décrits par les notes « fumées », « épicées », « noix de coco », « vanille », « chocolat noir », « café torréfié », « toastées », « tabac » (Pérez-Coello and Díaz-Maroto, 2009). Les molécules responsables de ces notes aromatiques appartiennent à différentes familles chimiques et sont présentés au **Tableau 1**.

Tableau 1. Caractéristiques sensorielles des différents composés volatils issus du bois de chêne et concentrations mesurées dans les vieux vins rouges de Bordeaux.

Composés	**Odeurs**[a]	**Exemples de seuils de perception**[b]	**Concentrations mesurées dans les vieux vins rouges de Bordeaux** [3]
Lactones			
***cis*-Whisky lactone**	Épicé, noix de coco	25 µg/L [1]	43-160 µg/L
***trans*-Whisky lactone**	Noix de coco	110 µg/L [1]	30-105 µg/L
Phénols volatils			
Eugénol	Épicé, clou de girofle	15 µg/L [2]	4-15 µg/L
Gaïacol	Fumée	20 µg/L [2]	5-18 µg/L
Aldéhydes phénoliques			
Vanilline	Vanille	65 µg/L [2]	8-32 µg/L
Acétovanillone	Vanille	ni	10-38 µg/L
Syringaldéhyde	Bois vert	ni	2-25 µg/L
Aldéhydes furaniques			
Furfural	Toasté, caramel	15000 µg/L[2]	8-202 µg/L
5-méthylfurfural	Cireux, caramel, beurré	16000 µg/L[2]	0-4 µg/L

[a] : odeurs issues de www.thegoodscentscompagny.com

[b] : seuils de détection déterminés en solution modèle hydroalcoolique à 12% et pH 3,5

[1] (Spillman et al., 2004) **;** [2] (Boidron et al., 1988) ; [3] (Picard, 2015) : concentrations quantifiées dans 24 vins rouges de Bordeaux issus des millésimes de 1994 à 2005 ; ni : non identifié

2.4.2.1 Les lactones issues du bois de chêne

Les γ-lactones sont des composés apportés par bois de chêne et ont des notes aromatiques variables en fonction de la nature de leur structure chimique. Le composé le plus abondant est la β-méthyl-γ-octalactone plus connue

sous le nom de whisky-lactone ou oak-lactone. Ce composé provient de la déshydratation des acides glycosylés présents dans le bois, qui libère les isomères de la whisky-lactone par le biais de la chauffe ou par hydrolyse enzymatique (Masson et al., 2000; Garde-Cerdán and Ancín-Azpilicueta, 2006; Hayasaka et al., 2007). Il existe quatre stéréoisomères de ce composé dont deux détectés dans les vins : l'isomère *cis*-β-méthyl-γ-octalactone et l'isomère *trans*-β-méthyl-γ-octalactone. Ces composés sont présents seulement dans le bois et détectés dans les vins ayant eu un contact avec ce dernier. Ces lactones du bois sont surtout présentes dans un bois peu chauffé et l'isomère *cis*-whisky-lactone serait en général, deux fois plus abondant que son isomère *trans* (Pollnitz et al., 1999; Díaz-Plaza et al., 2002; Waterhouse et al., 2016). L'isomère *cis* a un caractère « noix de coco », « terreux », « végétal » et est deux fois plus puissant olfactivement que l'isomère *trans* qui a plutôt des odeurs « épicées » (Chatonnet, 1995; Pollnitz et al., 1999).

2.4.2.2 Les phénols et les aldéhydes phénoliques issus du bois de chêne

Ils proviennent de la dégradation thermique de la lignine du bois de chêne et ont, en général, un impact positif sur l'arôme des vins grâce à leurs notes « fumées », « vanillées », « épicées » (Boidron et al., 1988; Garde-Cerdán and Ancín-Azpilicueta, 2006; Waterhouse et al., 2016). Le gaïacol, l'eugénol et l'isoeugénol font partis de la famille des phénols et apportent aux vins des odeurs de fumée et d'épices. Parmi les aldéhydes phénoliques, on trouve principalement la vanilline et les composés à noyau syringyle comme le syringaldéhyde et ses dérivés. Ces composés ont plutôt un caractère « vanillé », « fumé ». Ils apparaissent principalement après l'étape de chauffe du bois par libération des composés volatils depuis leurs précurseurs (Nonier et al., 2006; Díaz-Maroto et al., 2008; Waterhouse et al., 2016).

2.4.2.3 Les aldéhydes furaniques issues du bois de chêne

Les dérivés furaniques se forment grâce à la dégradation des polysaccharides du bois de chêne durant la chauffe et sont ensuite transmis au vin au cours de l'élevage (Cutzach et al., 1997; Chatonnet et al., 1999; Garde-Cerdán and Ancín-Azpilicueta, 2006). Ces composés résultant de la dégradation des glucides constituent une part majoritaire de la composition des arômes du bois. Parmi eux, les plus abondants sont le furfural et le 5-méthylfurfural. Ces composés ont des odeurs typiques de « caramel », « eau-de-vie », « toasté », « épices douces » (Guillén and Manzanos, 2002; Maga, 2018). Malgré leurs seuils de perception élevés, les dérivés furaniques participent indirectement à l'augmentation de l'intensité générale du caractère « boisé », « grillé » des vins et participent à la baisse de leur caractère « fruité » (Prida and Chatonnet, 2010).

2.4.2.4 Variabilité, dynamique et effets perceptifs des composés du bois de chêne

La composition chimique du bois de chêne peut facilement varier en fonction de l'espèce de chêne, de son origine géographique et, au sein même de l'espèce, suivant les arbres choisis (Mosedale et al., 1998, 1999; Feuillat et al., 1999; Pérez-Prieto et al., 2002; Garde-Cerdán and Ancín-Azpilicueta, 2006). De plus, les teneurs

en composés volatils vont également être modulées en fonction de la maturation et de la chauffe du bois (faible, moyenne, forte par exemple) ainsi que du nombre d'années d'utilisation de la barrique pour l'élevage des vins car les composés volatils peuvent être lessivés par contact (Towey and Waterhouse, 1996; Cerdán et al., 2002; Pérez-Prieto et al., 2002; Pérez-Coello and Díaz-Maroto, 2009).

Au cours du vieillissement du vin en bouteille, les teneurs des composés issus du bois de chêne peuvent varier. Par exemple, la cyclisation de la whisky-lactone, peut se produire par voie chimique. Sa teneur peut augmenter au cours du vieillissement, même après que le vin ne soit plus en contact avec le bois. C'est une des raisons pour laquelle, l'arôme de bois continue à s'intensifier après l'élevage (Pérez-Prieto et al., 2003; Wilkinson et al., 2004; Waterhouse et al., 2016). D'autre part, des composés tels que vanilline ou le 5-methylfurfural auront tendance à diminuer au cours de l'élevage et du vieillissement en bouteille à cause de la réduction de la fonction aldéhyde en alcool et à son estérification (Spillman et al., 1997; Pérez-Prieto et al., 2003; Jarauta et al., 2005; Garde-Cerdán and Ancín-Azpilicueta, 2006). Ce 5-methylfurfural pourra aussi se transformer au cours de cette étape, en composés plus odorants tel que le 2-furanemethanethiol par le biais de réactions chimiques ou microbiologiques (Boidron et al., 1988; Tominaga et al., 2000; Blanchard et al., 2001). Le furfural, peut avoir une autre origine que le bois et verra ses concentrations augmenter au vieillissement par le biais de la réaction de Maillard. Cependant, les quantités de furfural produites cette réaction sont très faibles comparées aux quantités issues du bois (Schreier and Jennings, 1979; Simpson, 1979; Pérez-Coello et al., 2003; Pérez-Prieto et al., 2003).

L'effet de l'élevage des vins au contact du bois de chêne sur l'expression aromatique des vins a longtemps été étudiée (Prida and Chatonnet, 2010; González-Centeno et al., 2016) visant à aider les tonneliers dans leur conception de gamme de barriques (effets des différentes chauffes, extraction des composés). Certains auteurs ont montré que les composés volatils issus du bois de chêne auraient un effet de « masquage » sur la perception fruitée de certains esters en mélange binaire ou en solution synthétique (Atanasova et al., 2004, 2005a, 2005b). Récemment, les travaux de Cameleyre et al. (2020), ont permis de revoir ces études. Ces résultats majeurs ont pu mettre en évidence des effets perceptifs de ces composés grâce à la mesure de seuils de détections et de volatilité des esters dans l'espace de tête du verre de dégustation. Par exemple, l'ajout de 2-furanéméthanethiol provoquait un effet de « masquage » de l'arôme fruité, tandis que la vanilline générait une diminution significative du « seuil » de perception olfactif de cet arôme. Des reconstitutions aromatiques simulant les trois grands types de chauffe ont permis de montrer (dans une solution hydroalcoolique et dans un vin rouge désaromatisé), que l'ajout des composés du bois de chêne correspondant aux types de chauffe moyennes et fortes abaissent les notes de « fruits frais » et « fruits rouges » à la différence de la chauffe faible qui augmenterait la volatilité des esters dans l'espace de tête.

Tout comme l'arôme fruité des vins rouges, l'arôme boisé apporté par les composés volatils issus du bois de chêne semble être un socle commun à tous les vins rouges de garde à Bordeaux. Les études précédentes menées par Picard (2015), ne semblaient pas mettre en évidence le rôle discriminant de ces composés dans la typicité du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux mais ces derniers, pourraient participer à un socle

commun nécessaire mais non suffisant. En revanche, à la lumière des nouvelles acquisitions sur les effets perceptifs, la connaissance du « boisage » de chaque cru semble importante pour comprendre leur expression aromatique.

2.4.3 Les composés terpéniques et C_{13}-norisoprénoïdes du raisin

2.4.3.1 Les monoterpènes et sesquiterpènes

Les terpènes constituent une grande famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Ils ont des squelettes carbonés composés à 10 atomes pour les monoterpènes ou de 15 atomes de carbone pour les sesquiterpènes. Dans le raisin, de nombreux monoterpènes existent, les plus odorants sont les alcools monoterpéniques tels que le linalol, le géraniol, l'α-terpinéol, le citronellol et le nérol. Ces derniers contribuent activement aux notes « fruitées », « florales » et « végétales » de certains vins (Ribéreau-Gayon et al., 1975; Schreier and Jennings, 1979; Strauss et al., 1987; Ribéreau-Gayon et al., 2012a). Bien qu'ils participent à l'arôme des raisins issus de certains cépages dits « muscatés », ces composés sont essentiellement libérés depuis des formes glycosylées au cours des étapes de fermentations de manière enzymatique ou chimique à pH acide lors des étapes post-fermentaires (Gunata et al., 1985; Mateo and Jiménez, 2000; Skinkis et al., 2008). Les concentrations en terpénols des vins de cépages à saveur simple tels les cépages de type « cabernet » et le merlot sont, en général, assez faibles (Ribéreau-Gayon et al., 2012a). Cependant, Ribéreau-Gayon et al., (1975), ont montré qu'un effet synergique pouvait intervenir entre plusieurs monoterpènes puisque le mélange des principaux terpénols possédait un seuil de détection olfactif nettement inférieur à celui de chacun des composés pris séparément.

Plutôt associés aux vins jeunes, les terpénols ont tendance à voir leurs teneurs diminuer au cours du vieillissement des vins et cette diminution laisse place à la formation des monoterpènes oxydés tels que l'oxyde de linalol ou l'oxyde de nérol (Slaghenaufi and Ugliano, 2018). Ce sont des composés stables dans les vins. Ils ont déjà été dosés, par exemple, dans des vins de riesling âgés de 20 ans (Simpson, 1979).

Au vieillissement, la concentration globale des monoterpènes libres augmente du fait de l'hydrolyse des précurseurs glycosylés mais ce sont préférentiellement des terpènes cycliques (moins odorants) qui sont présents, ce qui implique la baisse générale du caractère « terpénique » dans les vins vieux (Williams et al., 1980; Strauss et al., 1986). De nombreux terpènes ont été quantifiés également dans des eaux-de-vie de Cognac, participant à leur arôme par effet synergique (Thibaud et al., 2020).

Tableau 2. Caractéristiques sensorielles des différents terpènes et concentrations mesurées dans les vieux vins rouges de Bordeaux.

Composés	Odeurs*	Exemples de seuils de perception	Concentrations mesurées dans les vieux vins rouges de Bordeaux [5]
Alcools et oxydes monoterpéniques			
α-terpinéol	Résineux, pin	250 µg/L [1]	0-23 µg/L
Terpinèn-1-ol	Bois humide	ni	nd
Terpinèn-4-ol	Poivré, humus	110 µg/L [2]	10-114 ng/L
Oxyde de linalol (somme des isomères)	Floral, boisé	3000-5000 µg/L [3]	nd
Monoterpènes cycliques et terpinènes			
1,4-cinéole	Herbacé, camphré	0,63 µg/L [4]	15-522 ng/L
p-cymène	Citronné, solvant	ni	nd
α-terpinène	Citronné, boisé	ni	0-18 ng/L
γ-terpinène	Essence de térébenthine	ni	0-15 ng/L
α-phellandrène	Aneth, épicé	ni	nd
Sesquiterpènes linéaires et cycliques			
Nérolidol	Cireux, floral	ni	nd
Bisabolol	Floral, épicé	ni	nd

*: odeurs issues de www.thegoodscentscompagny.com et www.flavornet.org

[1] : vin (Ferreira et al., 2001) ; [2] **:** solution modèle (solution hydroalcoolique, 10% éthanol v/v) (Oliveira et al., 2004) [3] **:** non indiqué (Mateo and Jiménez, 2000) ; [4] **:** vin de cabernet-sauvignon du sud de la France (2012) (Antalick et al., 2015) ; [5] **:** (Picard, 2015) : concentrations quantifiées dans 24 vins rouges de Bordeaux issus des millésimes de 1994 à 2005 ; ni : non identifié ; nd : non déterminé

On peut remarquer que, parmi les terpènes cycliques, le terpinolène peut être intéressant pour ses notes de « térébenthine » (Dvaranauskaite et al., 2008). Le *p*-cymène peut aussi avoir son importance puisqu'il présenterait des notes « menthées », « solvant ». Il a été montré que ses teneurs augmenteraient lors d'essais de vieillissement modèles à partir de limonène et terpinolène (Schulte-Elte et al., 1978; Slaghenaufi and Ugliano, 2018). De même, le 1,4-cinéole connu pour ses notes de « foin », « herbes séchées », « cassis » dans les vins rouges australiens, aurait tendance à s'accumuler au vieillissement *via* la voie potentielle de dégradation du terpinèn-4-ol (Antalick et al., 2015; Slaghenaufi and Ugliano, 2018).

Les sesquiterpènes sont plutôt impliqués dans les notes « poivrées », notamment grâce à l'implication de la (-)-rotundone mais leurs dynamiques au cours du vieillissement sont moins étudiées (Wood et al., 2008). Dans l'étude de Slaghenaufi et Ugliano, (2018), les sesquiterpènes linéaires tels que le farnésol et le nérolidol ont tendance à diminuer au cours d'une expérience de vieillissement forcée pour former des sesquiterpènes cycliques. A l'inverse, lors du premier mois de « vieillissement biologique » des vins de Xérès, les teneurs de ces terpènes ont tendance à augmenter grâce à la flore microbienne qui les libèrent depuis leurs précurseurs (Morales et al., 2020). Les caractéristiques de ces composés terpéniques sont décrites dans le **Tableau 2**.

2.4.3.2 Les composés terpéniques à odeur « menthée »

Dans le vin, il existe des terpènes présentant des odeurs rafraîchissantes et des effets somesthesiques rappelant la menthe, la menthe poivrée, l'eucalyptus. Le 1,8-cinéole, par ses notes « eucalyptus », « menthe », « fraîches », « camphrées » joue un rôle important dans le caractère « eucalyptus » des vins de merlot californiens et de syrah australiens par exemple (Hervé et al., 2003; Capone et al., 2011). Il a également fait l'objet d'études sur les nuances « vertes » des vins rouges de merlot et de cabernet-sauvignon. Le 1,8-cinéole, serait quantifié à des teneurs élevées avant la maturation des baies (Poitou et al., 2017). Dans les vins vieux de Valpolicella, le 1,8-cinéole apporterait sa contribution aux notes « résineuses », « térébenthine », « encens », « eucalyptus » (Slaghenaufi and Ugliano, 2018). Outre les travaux qui montrent que le 1,8-cinéole apparaît dans les vins à la suite de migration aérienne d'arômes d'arbres eucalyptus ou de plantes envahissantes (Capone et al., 2011; Poitou et al., 2017), d'autres auteurs montrent que le 1,8-cinéole s'accumule lors du vieillissement des vins issus de cépage de tannat à partir de réarrangements acides terpéniques et du limonène (Fariña et al., 2005). Plus récemment, Slaghenaufi et Ugliano, (2018) ont montré que la présence de 1,8-cinéole dans les vieux vins de la région de Valpolicella pouvait être causée par la cyclisation de l'α-terpinéol. De ce fait, la présence de ce composé dans les vieux vins de Bordeaux pourrait s'avérer intéressant à étudier.

Une autre molécule qui pourrait être étudiée dans le cadre de l'explication de la note « menthée » des vins vieux est la pipéritone. Elle a récemment été identifiée dans les vieux vins rouges de Bordeaux. Cette cétone monoterpénique, n'est pas associée au vieillissement prématuré des vins rouges (Pons et al., 2016) mais bien au vieillissement qualitatif des vins et contribuerait au caractère « menthé », « rafraîchissant » du bouquet de vieillissement (Picard et al., 2016a). Les conditions de cette contribution doivent encore être étudiées au regard de la composition de la matrice, des teneurs et de la répartition énantiomérique. La pipéritone a été décrite comme un métabolite secondaire de la voie de dégradation du limonène dans la menthe (Mahmoud and Croteau, 2003). D'autres composés terpéniques tels que la menthone et la pulégone, la carvone aux odeurs caractéristiques de « menthe » sont issus, pour certains, de cette même voie de dégradation du limonène. Ils auraient été détectés dans les vins vieux de Bordeaux. Comme pour la pipéritone, la recherche sur leurs teneurs ainsi que leur contribution olfactive mérite d'être approfondie par de nouvelles analyses et des expériences sensorielles (Picard et al., 2018). Les caractéristiques de ces composés terpéniques sont décrites dans le **Tableau 3**. Ces composés paraissent intéressants pour leur contribution aux notes fraîches du bouquet de vieillissement

des vins rouges de Bordeaux. Un chapitre sera consacré à ces composés et leur dynamique lors de la partie 2 de cette thèse.

Tableau 3. Caractéristiques sensorielles du limonène et des terpènes à odeur « menthée » et concentrations mesurées dans les vieux vins rouges de Bordeaux

Composés	**Odeurs***	**Exemples de seuils de détection**	**Concentrations mesurées dans les vieux vins rouges de Bordeaux [6]**
Limonène	Terpénique, citronné, herbacé	15 µg/L [1]	88-326 ng/L
1,8-cinéole	Eucalyptus, camphré	1,1 [5] , 2,5 [4] µg/L	51-291 ng/L
Pipéritone	Menthé, « frais »	0,9[a] ; 71,5[b] µg/L [2]	35-1740 ng/L
Carvone	Menthe douce, cumin	ni	74-248 ng/L
Menthone	Menthe	ni	10-27 ng/L
Pulégone	Menthe poivrée, camphré, Herbacé	ni	9-122 ng/L
Menthylacétate	Thé, menthe fraîche	ni	nd
Néomenthylacétate	ni	ni	nd
Mintlactone	noix de coco, menthe verte, poudre de tabac	25,7 µg/L[3]	227-987 ng/L

*: odeurs issues de www.thegoodscentscompagny.com et www.flavornet.org ; ni : non identifié

[1] : non spécifié (Zalacain et al., 2007) ; **[2] :** [a] solution modèle (solution hydroalcoolique, 12% éthanol v/v, 5 g/L d'acide tartrique, pH = 3,5), [b] vin rouge jeune de Bordeaux (Pons et al., 2016) ; **[3] :** eau (Picard et al., 2017a) ; **[4] :** vin de cabernet-sauvignon du sud de la France (2012) (Antalick et al., 2015) ; **[5]** : vin (Hervé et al., 2003) ; **[6] :** (Picard, 2015; Picard et al., 2018) : concentrations quantifiées dans 15 vins rouges de Bordeaux issus des millésimes de 1994 à 2015 ; nd : non déterminé

2.4.3.3 Les C_{13}-norisoprenoïdes

Les dérivés C_{13}-norisoprenoïdes sont des composés aux odeurs agréables de « fleurs », « fruits », « épices », « eucalyptus ». Ils sont détectés à la fois dans le thé, le tabac, les fruits et les huiles essentielles de fleurs *d'osmanthus* et de *Boronia megastigma* (plante de la famille des agrumes) (Winterhalter and Rouseff, 2001). Également détectés dans les vins, ces composés sont essentiels à l'arôme des vins de chardonnay, chenin blanc, sémillon, sauvignon blanc, riesling, cabernet-sauvignon et syrah par exemple (Winterhalter and Rouseff, 2001; Razungles et al., 1993; Sefton et al., 1993, 1994). Ces composés sont issus de la dégradation oxydative des caroténoïdes dans la baie de raisin et certains, existant sous forme glycosylée, sont révélés par des glycosidases fongiques exogènes (Baumes et al., 2002; Mendes-Pinto, 2009; Ribéreau-Gayon et al., 2012a). Ils peuvent être divisés en sous-familles : *(i)* composés avec une structure mégastigmane oxygénée souvent détectés dans le jus et le vin jeune, *(ii)* composés avec une structure mégastigmane non-oxygénée, *(iii)* composés ne présentant pas

de structures mégastigmane. Les composés qui représentent les deux derniers groupes se formeront généralement au cours du vieillissement du vin (Mendes-Pinto, 2009).

Parmi les dérivés norisoprénoïdes les plus courants, et présents dans le jeune vin, la β- damascénone, aux odeurs de « pomme cuite », de « coing » et de « miel », est quantifiée en concentrations très variables. Elle semblerait avoir une importance dans l'expression du caractère fruité des vins. Elle participerait à ce caractère, par le biais d'effets synergiques avec les esters par exemple (Escudero et al., 2007; Pineau et al., 2007). La β-ionone caractérisée par ses notes « florales » et « violette » semble intervenir dans l'arômes des vins rouges de merlot, cabernet-sauvignon et cabernet franc de la région de Bordeaux. Mais ses teneurs diminuent pendant l'élevage et sa perception olfactive est très variable d'un individu à l'autre du fait de la présence d'une anosmie spécifique chez environ 50% de la population (Kotseridis et al., 1999; Tempere et al., 2011).

Tandis que les teneurs de ces deux derniers composés ont tendance à diminuer au cours du vieillissement des vins, d'autres ont tendance à augmenter et pourraient participer au bouquet de vieux vins. Par exemple, Loscos et al., (2010) ont montré que trois norisoprénoïdes ne seraient pas détectés après la fermentation alcoolique mais que les teneurs augmenteraient après une semaine de vieillissement accéléré. Il s'agit du 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN) du vitispirane et du (E)-1-(2,3,6-trimethylphenyl)-buta-1,3-diene (TPB). De plus, d'autres études ont montré que le TDN et le vitispirane augmenteraient largement au cours de l'élevage des vins de Porto (Silva Ferreira and Guedes de Pinho, 2004). Par ailleurs, le (E)-1-(2,3,6-triméthylphenyl)-buta-1,3-diène (TPB) et le TDN ont aussi pu être associés au vieillissement de vins des cépages corvina et corvinone (Slaghenaufi and Ugliano, 2018).

Par ses arômes de « fleurs », « géranium », « tabac », le TPB est un potentiel contributeur des notes de tabac ressenties dans les vins vieux (Janusz et al., 2003; Slaghenaufi and Ugliano, 2018). Pour sa part, le vitispirane présente des nuances « camphrées », « chrysanthème », « terreux-boisé » et pourrait contribuer aux notes « résineuses », « térébenthines » des vieux vins rouges (Schulte-Elte et al., 1978; Slaghenaufi and Ugliano, 2018). Enfin, le TDN, connu pour apporter un caractère « pétrolé » aux vieux vins de riesling et pourrait participer à la note « kérosène » identifiée dans des vieux vins (Simpson, 1978; Winterhalter et al., 1990). Les caractéristiques sensorielles de ces composés ainsi que les teneurs mesurées dans les vieux vins rouges de la région bordelaise sont répertoriées dans le **Tableau 4**.

Tout comme les composés terpéniques dont les teneurs pourraient augmenter au cours du vieillissement, l'étude des C_{13}-norisoprénoïdes s'avère intéressante. L'analyse notamment du TPB, TDN et vitispirane dans différents vins vieux de la région de Bordeaux, pourrait nous aider à comprendre le dynamisme de ces composés au vieillissement des vins de notre région et d'élucider si ces composés peuvent-être de bons marqueurs de vieillissement qualitatif.

Tableau 4. Caractéristiques sensorielles des C_{13}-norisoprénoïdes et des isomères de la tabanone et concentrations mesurées dans les vieux vins rouges de Bordeaux.

Composés	Odeurs*	Exemples de seuils de perception	Concentrations mesurées dans les vieux vins rouges de Bordeaux [6]
C_{13}-norisoprénoïdes			
β-damascénone	Pomme, rose, miel	0,05 µg/L [1]	426-798 ng/L
TPB	ni	0,04 µg/L [2]	nd
TDN	Goudron	20 µg/L [3]	nd
Vitispirane	Camphré, boisé, floral	800 µg/L [4]	3-8 µg/L
Mégastigmatriènones			
Σ isomères de la tabanone	Tabac, épicé, boîte à cigare	88 µg/L [5]	3-11 µg/L

* : odeurs issues de www.thegoodscentscompagny.com et www.flavornet.org ; ni : non identifié

[1] : solution hydroalcoolique (12 % éthanol v/v, 4 g/L acide tartrique, pH ajusté 3,5 avec 0,5 N KOH) (Pineau et al., 2007) ; [2] : vin de chenin blanc jeune (11,5% éthanol, pH = 3,5) (Janusz et al., 2003) ; [3] : vin de riesling (Simpson, 1978) ; [4] : vin blanc (Simpson and Miller, 1983) ; [5] : vin rouge de merlot, seuil de détection du mélange d'isomères (Slaghenaufi, 2012) ; [6] (Picard, 2015) : concentrations quantifiées dans 24 vins rouges de Bordeaux issus des millésimes de 1994 à 2005 ; nd : non déterminé

2.4.4 Les mégastigmatriènones (ou tabanones)

Les tabanones sont des composés odorants qui appartiennent également à la famille chimique des C_{13}-norisoprenoïdes. Elles ont d'abord été identifiées dans la feuille de tabac (Aasen et al., 1972) et détectées une fois dans les vins issus de cabernet-sauvignon (Robinson et al., 2011). La tabanone présente plusieurs stéréoisomères liés au motif triène dont cinq ont été identifiés (**Figure 4**).

Cette molécule a fait l'objet de travaux récents qui ont pu déterminer son origine, ses teneurs dans différents vins et spiritueux, son évolution au vieillissement et ses effets sensoriels. La première origine de cette molécule est le bois de chêne. En effet, elle provient de la dégradation thermique de précurseurs dont le galloyglucoside du 3-oxo-α-ionol (macarangioside E) est présent dans le bois (Slaghenaufi et al., 2013). La deuxième origine est le raisin. Les premiers résultats indiquent que la tabanone est probablement issue de la dégradation des caroténoïdes tout au long du vieillissement en bouteille. Les dégradations des caroténoïdes conduisent à la formation du 3-oxo-α-ionol qui, peut produire des mégastigmatriènones par déshydratation en milieu acide (Slaghenaufi et al., 2014, 2016). Dans les 68 vins blancs et rouges commerciaux analysés par Slaghenaufi et al. (2014), la megastigma-4,6Z,8Z-trien-3-one est l'isomère qui a été quantifié en concentration la plus importante et les teneurs de ce composé varient entre 6 et 42 µg/L. De plus, il est noté qu'un des cinq stéréoisomères (la megastigma-4,7*E*,9-trien-3-one) est seulement présent dans les vins boisés, ce qui lui confère un statut de « témoin » du contact du vin avec le bois de chêne.

Caractérisé par les notes « de tabac », « de miel » et « d'encens », chaque stéréoisomère apporte sa subtilité olfactive. Le mélange des isomères des tabanones présente un seuil de détection olfactif dans les vins assez élevé (de l'ordre de 88 µg/L) ce qui ne lui confère pas un impact direct sur l'arôme des vins. Mais cela lui permet de participer à la complexité aromatique et d'être un témoin du vieillissement des vins (Weyerstahl and Licha, 1997; Slaghenaufi, 2012; Slaghenaufi et al., 2014). Les caractéristiques sensorielles de ce composé ainsi que les teneurs mesurées dans les vieux vins rouges de Bordeaux sont référencées dans le **Tableau 4**.

Dans les études récentes sur le bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux et le vieillissement qualitatif des vins de réserve de Champagne, la tabanone n'apparaît pas comme un composé associé directement à la typicité du bouquet de vieillissement mais comme un indicateur du vieillissement (Picard, 2015; Le Menn, 2018). Il n'est pour autant pas exclu qu'il participe (avec d'autres) à un fond commun de molécules liées au vieillissement. Aussi, il nous semble intéressant de poursuivre le dosage de ce composé dans plusieurs vins rouges âgés afin de vérifier si ce composé est toujours un bon témoin de vieillissement qualitatif et comprendre comment il peut contribuer au bouquet de vieillissement ansi qu'aux identités des crus.

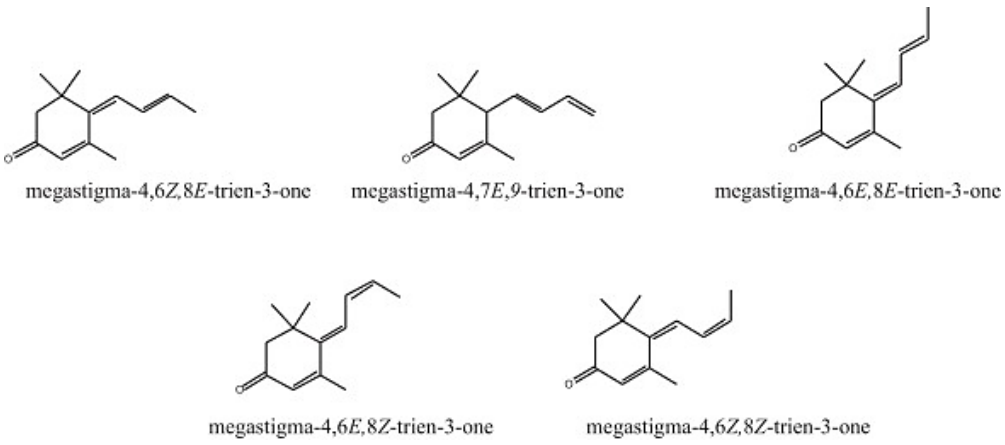


Figure 4. Structure chimique des 5 isomères de la tabanone (Slaghenaufi et al., 2014).

2.4.5 Les esters

Les esters ont, dans le vin, deux origines distinctes. Les processus fermentaires qui entraînent des estérifications de nature enzymatique et la conservation du vin de longue durée qui conduit à des estérifications de nature chimique. Dans le même temps, une réaction d'hydrolyse de la fonction ester opère pour certains d'entre eux au cours du temps. Aussi, les esters dosés à l'instant t dans un vin ne représentent pas les composés produits mais la différence entre ce qui a été produit et ce qui a été hydrolysé. Au cours de la vie du vin, les esters subissent nombre de réactions, ce sont des composés éminemment dynamiques. Ces esters étant liés à

l'expression de la note fruitée des vins, cette dernière résultera de l'équilibre qui sera sans cesse modifié au cours de la vie du vin sous l'influence de la composition du produit mais aussi des conditions de conservation. Les caractéristiques sensorielles de ces composés sont référencées dans le **Tableau 5**. Cependant, les teneurs dosées dans les vieux vins rouges de Bordeaux n'apparaîtront pas dans le tableau car elles n'ont pas été étudiées lors de la thèse de Picard (2015).

2.4.5.1 Les esters éthyliques d'acides gras

Les esters éthyliques d'acides gras correspondent aux esters éthyliques des acides butanoïque, hexanoïque, octanoïque, décanoïque et dans une moindre mesure, de l'acide dodecanoïque. Ils sont produits par le métabolisme de la levure *via* la voie d'Ehlrich, ensuite ils s'hydrolysent au cours de l'élevage des vins ou du vieillissement en bouteille (Ramey and Ough, 1980; Lytra et al., 2017). Les deux esters éthyliques souvent les plus abondants sont l'octanoate d'éthyle et l'hexanoate d'éthyle ainsi qu'une faible proportion de dodécanoate d'éthyle.

De manière générale, les esters éthyliques d'acide gras sont quantifiés en plus faibles concentrations dans les vins rouges que dans les autres couleurs de vins (blancs, rosés, liquoreux). Les conséquences des températures de vinification sur les teneurs en esters sont importantes (Antalick et al., 2014). Ces esters contribuent à l'arôme fruité des jeunes vins grâce aux notes « fruits rouges », « fruits frais », « fruits noirs » souvent par le biais d'interactions perceptives (Pineau et al., 2009; Lytra et al., 2013).
Il a été noté que, globalement, les teneurs de ces esters diminuent avec le vieillissement du vin et que leur contribution aromatique est atténuée après les premières années de vieillissement (Ramey and Ough, 1980; Pineau, 2007). Cependant, de récentes études ont précisé que seules les teneurs des esters éthyliques d'acides gras à longue chaîne tels que le décanoate d'éthyle et le dodécanoate d'éthyle diminuaient dans les dix premières années de vieillissement des vins rouges pour ensuite rester stables au cours du temps (Antalick et al., 2014). Donc cette famille d'esters pourrait participer à la conservation des notes « fruits frais » mentionnées dans le bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux.

Tableau 5. Caractéristiques sensorielles des principaux esters détectés dans les vins.

Composés	Abréviations	Odeurs*	Exemples de seuils de perception
Esters éthyliques d'acides gras	***EEAG***		
Propanoate d'éthyle	C_3C_2	Solvant, fraise mure	2100 µg/L [1]
Butanoate d'éthyle	C_4C_2	Kiwi mur, fraise mure,	20 [2], 600 [1] µg/L
Hexanoate d'éthyle	C_6C_2	fromage	14 [2], 440 [1] µg/L
Octanoate d'éthyle	C_8C_2	Ananas, fruit, pomme	960 [1], 580 [3] µg/L
Décanoate d'éthyle	$C_{10}C_2$	Cireux, peau de pomme, fruité	200 µg/L [2]
Dodécanoate d'éthyle	$C_{12}C_2$	Cireux, savon, fruité	nd
		Cireux, savon	
Acétates d'alcool supérieurs	***AAS***		
Acétate de propyle	C_2C_3	Solvant, fruité	65000 µg/L [4]
Acétate de 2-méthylpropyle	C_2iC_4	Solvant, fruité	1600 [5], 2100 [1] µg/L
Acétate de butyle	C_2C_4	Solvant, fruité	1800 [3], 1830 [1] µg/L
Acétate de 3-méthylbutyle (isoamyle)	C_2iC_5	Banane	30 [2], 860 [1] µg/L
Acétate d'hexyle	C_2C_6	Poire, ananas, fruité	670 µg/L [1]
Acétate d'octyle	C_2C_8	Cireux, fruité	800 µg/L [1]
Acétate de 2-phényléthyle	C_2PhC_2	Floral, rose, vineux	250 [6], 6500 [1] µg/L
Les esters éthyliques d'acides substitués	***EEAS***		
2-méthylpropanoate d'éthyle	iC_4C_2	Fraise, kiwi, fruité, solvant	15 [2], 5600 [1] µg/L
2-méthylbutanoate d'éthyle	$2\text{-me}C_4C_2$	Fruité, kiwi	18 [2], 1890 [1] µg/L
3-méthylbutanoate d'éthyle	iC_5C_2	Fromage, fruité	3 µg/L [2]
Phénylacétate d'éthyle	PhC_2C_2	Floral, mimosa, olive, miel	73 µg/L [7]
2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle	Leucate	Mûre	300 µg/L [8]
Les cinnamates			
Cinnamate d'éthyle	$CinC_2$	Cerise, figue, fruité, floral	1,6 [5] µg/L
Dihydrocinnamate d'éthyle	$dHCinC_2$	Fruité, ananas, amande	1,1 [5] µg/L

***** : Odeurs décrites par Lytra et par Antalick (Antalick, 2010; Lytra, 2012)

[1]: vin rouge désaromatisé (Pineau, 2007) ; **[2]:** solution hydroalcoolique (éthanol 11% v/v, avec 7 g/L de glycérol et 5 g/L d'acide tartrique, pH = 3,4 ajusté avec NaOH 1M) (Ferreira et al., 2000) ; **[3]:** vin (Etievant, 1991) ; **[4]:** Solution hydroalcoolique (14% éthanol v/v) (Moreno et al., 2005) ; **[5]:** solution hydroalcoolique (10% éthanol v/v, avec 5 g/L d'acide tartrique à Ph = 3,2) (Aznar et al., 2003) ; **[6]:** Solution hydroalcoolique (10% éthanol v/v) (Guth, 1997) ; **[7]:** vin (Tat et al., 2007) ; **[8]:** Solution hydroalcoolique (12% éthanol v/v, pH = 3,5, ajusté avec de l'acide tartrique) (Falcão et al., 2012) ; nd : non déterminé

2.4.5.2 Les acétates d'alcools supérieurs

Les acétates d'alcools supérieurs sont issus de l'estérification de l'acide acétique par des alcools dits « supérieurs », eux-mêmes produits par le métabolisme des acides aminés lors de la fermentation alcoolique (Saerens et al., 2008; Sumby et al., 2010). On retrouve parmi ces composés, l'acétate de propyle, l'acétate de 2-méthylpropyle, l'acétate de butyle, l'acétate d'isoamyle, l'acétate d'hexyle et l'acétate d'octyle et l'acétate de 2-phényléthyle. Les teneurs de ces composés sont maximales dans les vins jeunes de moins de 6 mois. Les vins rouges se retrouvent donc encore une fois, avec des teneurs plus faibles en ces composés bien que l'acétate d'isoamyle reste l'acétate le plus présent dans tous les types de vins. De plus, la variabilité dans la composition relative des acétates d'alcools supérieurs dans les vins provient des différences entre les lipides, l'oxygène et le statut azoté des milieux fermentés (Antalick et al., 2014). Ces composés possèdent des odeurs intenses et « lourdes » de type « solvant », « banane » ou « bonbon anglais » qui peuvent parfois masquer l'arôme variétal s'ils sont présents en très grande quantité (Ribéreau-Gayon et al., 2012a).
De récentes études sur le dosage d'une large gamme de vins français ont montré que ces composés diminuaient peu lors du vieillissement pour les vins rouges. Les diminutions des concentrations opèrent au cours des 6 premiers mois de la vie du vin pour atteindre un plateau. Il est également spécifié que l'hydrolyse serait plus rapide et marquée pour les composés à longues chaînes tels que l'acétate d'hexyle, d'octyle et de phényléthyle (Antalick et al., 2014).

L'estérification chimique prend place lors de l'élevage des vins et le vieillissement en bouteille. Les conditions de température et de pH vont influencer largement les réactions d'hydrolyse et d'estérification pour impacter la pérennité dans certains esters (Ribéreau-Gayon et al., 2012a). C'est ainsi, qu'au cours du vieillissement, une réorganisation des teneurs de certaines familles d'esters s'opère et la formation de nouveaux esters, tels que les esters éthyliques d'acides substitués, intervient pour modifier l'arôme fruité des vins.

2.4.5.3 Les esters éthyliques d'acides substitués

Les vins rouges sont plus riches en esters éthyliques d'acides substitués que les autres vins. Ils sont formés en faible quantité pendant la fermentation alcoolique, mais c'est au cours de l'élevage et du vieillissement en bouteille, que leurs teneurs augmentent grâce à l'estérification chimique des acides substitués, eux-mêmes formés pendant la fermentation alcoolique (Díaz-Maroto et al., 2005; Antalick et al., 2014; Lytra et al., 2017). Ces estérifications semblent agir au moins les vingt premières années de vieillissement en bouteille (Lytra et al., 2017).
Ces esters sont connus depuis une vingtaine d'années pour impacter l'arôme des vins rouges (Guth, 1997). Ils jouent un rôle important dans l'arôme fruité et des travaux récents ont montré que leur présence module fortement l'intensité et la complexité de l'expression aromatique fruitée des vins rouges *via* des interactions perceptives puissantes (Pineau et al., 2009; Lytra et al., 2012b, 2013, 2014a, 2015). Ils pourraient être une clé de la conservation du caractère « fruité frais » des vins vieux.

Tout d'abord, on distingue.

- **Les esters d'acides portant un substituant alkyle** : le 2-méthylpropanoate d'éthyle, le 2-méthylbutanoate d'éthyle, le 2-méthylbutanoate d'éthyle et le phénylacetate d'éthyle. Dans les vins rouges, les études de Lytra et al. (2014) ont démontré que seul l'énantiomère *S* du 2-méthylbutanoate d'éthyle est présent dans les vins et ses teneurs augmentent au cours du vieillissement. Globalement, ces esters sont présents dans les vins en dessous de leur seuil de perception. Pris séparément, ils possèdent des odeurs agréables de « fraise », « kiwi » nuancée par des odeurs de « solvant », « fromage » (Pineau et al., 2009). Le 2-méthylpropanoate et le 2-méthylbutanoate jouent un rôle important comme exhausteur de l'arôme fruité par leur rôle contributeur aux notes « fruits noirs » des vins rouges (Pineau et al., 2009; Lytra et al., 2014a).

- **Les esters d'acides hydroxylés** : le 3-hydroxybutanoate d'éthyle, le 4-hydroxybutanoate d'éthyle, le 2-hydroxyhexanoate d'éthyle, le 4-oxopentanoate d'éthyle et le 6-hydroxyhexanoate d'éthyle. Le 3-hydroxybutanoate d'éthyle a fait l'objet d'une étude spécifique menée par Lytra et al. (2015) où ils ont observé que sa forme *R* augmentait durant le vieillissement des vins. De plus, ces travaux ont montré que ce composé agit comme exhausteur des notes « fruits rouges » et « fruits frais » par le biais d'interactions perceptives. Pour les autres composés, en raison de leur faible concentration dans les vins, il est décrit que ces molécules n'affecteraient pas directement l'arôme des vins (Pineau, 2007; Lytra, 2012).

- **Les esters éthyliques substitués et hydroxylés** : le 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle et le 2-hydroxy-3-méthylbutanoate d'éthyle. Les rapports des deux énantiomères du 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle vont varier au vieillissement où les plus grandes concentrations de la forme *S* sont mesurées dans les vins les plus anciens (Lytra et al., 2012b). De la même manière, le 2-hydroxy-3-méthylbutanoate d'éthyle est présent dans les vins rouges et ses teneurs auront également tendance à augmenter au vieillissement pour atteindre des valeurs maximales dans les vins les plus anciens (Gammacurta, 2014; Lytra et al., 2017). D'un point de vue olfactif, le 2-hydroxy-4-méthylpentanoate d'éthyle est connu pour apporter aux vins des notes de « mûres » (Falcão et al., 2012). Le mélange racémique de ce composé n'a pas d'impact direct sur l'arôme des vins mais sa présence au sein d'un mélange d'esters va entraîner une diminution du seuil de perception olfactif (augmentation de l'intensité de l'odeur) et confère donc un effet d'exhausteur des notes « fruits noirs », « fruits frais » aux vins rouges (Lytra et al., 2012b).

Cette famille d'esters éthyliques substitués pourrait ainsi constituer de bons marqueurs du vieillissement qualitatifs des vins et contribuer à la conservation des notes « fruits frais rouges et noirs », les attributs de la jeunesse des vins rouges de Bordeaux citées par Picard (2015).

2.4.6 Le cyclotène et l'isophorone

Le caractère « réglisse » fait partie des caractéristiques sensorielles données par les dégustateurs pour définir le bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux. Ce descripteur a été le 4ème le plus cité par le panel (**Figure 3**) lors des études menées par Picard et al. (2015), ce qui lui permet d'être considéré comme l'un des plus représentatifs de ce concept sensoriel. De plus, lors de l'étude de Picard (2015), l'odeur de « réglisse » a été utilisée pour décrire les vins de rive gauche tout comme le caractère « menthe ». Il pourrait exister une dimension gustative ou somesthésique liée à ce descripteur (Peynaud, 1980). Cependant, aucun déterminant moléculaire associé au descripteur « réglisse » n'avait été mis en évidence lors de cette première étude. Les travaux sur le vieillissement qualitatif des vins de réserve de Champagne réalisés par Le Menn (2018) se sont intéressés à la nuance « empyreumatique » retrouvée dans ces vins. Ces nuances décrites en GC-O par des zones odorantes de « sucre chaud », « sucre cuit », « caramel » et « brûlé » faisaient référence aux nuances olfactives du caramel alimentaire. Certaines de ces zones odorantes étaient liées à la présence du 2-hydroxy-3-méthyl-2-cyclopenten-1-one communément appelée cyclotène ou maplelactone (**Figure 5**). Ces composés ont été décrits comme « caramel », « sirop d'érable », « épicé », « vanillé », « fruité » et « réglisse » par de nombreux auteurs (Flament, 2001; Charalambous, 2012; Paravisini et al., 2015). Une autre zone odorante a été associée à la présence du composé 3,5,5-triméthylcyclohex-2-èn-1-one plus communément appelée l'α-isophorone (**Figure 5**). Les odeurs décrites pour ce composé s'articulent davantage autour de notes « fraîches », « vertes », « menthe », « boisées » et « camphrées » (Burdock, 2016). L'isophorone est un composé dérivé des C_9-norisoprénoïdes dans la baie dont la dégradation de la zéaxanthine induit la formation de deux glycosides ((1R)-3,5,5-triméthyl-3-cyclohexèn-1-ol-*O*-*β*-glucopyranoside et (4R) ou (4S)-4-hydroxy-3,5,5-triméthyl-2-cyclohexèn-1-one-*O*-*β*-glucopyranoside), précurseurs respectifs des formes volatiles des β- et α-isophorone (Winterhalter and Rouseff, 2001). Ces deux isomères sont des composés caractéristiques des odeurs du safran (*Crocus sativus*) (Tarantilis and Polissiou, 1997; Carmona et al., 2006) et des composés marqueurs de l'origine géographique des miels (Donarski et al., 2010; Patrignani et al., 2018).

D'autre part, le cyclotène est très employé dans les domaines cosmétiques et alimentaires grâce à ses nombreuses caractéristiques aromatiques. On le retrouve aussi dans le parfum « La petite robe noire » de Guerlain, qui contient essentiellement ce composé. Il a été choisi pour ses multiples odeurs de « réglisse noir », de « chocolat mou » et de « caramel doux » (Faire le tour du monde en parfums, 2014). Le cyclotène est connu pour être produit lors de la réaction de Maillard par l'effet de la caramélisation des sucres (Kroh, 1994). Dans le domaine du vin, il a été identifié dans des extraits de bois chauffés lors de la fabrication des barriques (Cutzach et al., 1997). C'est un composé qui a aussi été quantifié dans des extraits de vieux vins doux naturels (Banyuls et Rivesaltes) n'ayant jamais été conservés dans un contenant bois de chêne (Cutzach et al., 1998). Dans les vins blancs, le cyclotène est également retrouvé dans les vins de chardonnay de Bourgogne où il joue un rôle olfactif d'intérêt (Le Fur, 1998). De son côté, l'isophorone a été identifiée dans les vieux vins de riesling (Simpson and Miller, 1983). De plus, ce composé a été identifié dans les vins de cinq cépages autochtones

rouges et blancs italiens. Ces travaux montrent un effet du cépage sur les teneurs en isophorone (Panighel et al., 2014). Dans l'étude de Le Menn (2018), portant sur le vieillissement des vins de réserve de Champagne, le cyclotène et l'isophorone ont été identifiés pour être caractéristiques des odeurs « empyreumatiques » dans ces vins. Ils ont également été quantifiés et retrouvés en concentrations d'autant plus importantes que les vins étaient vieux.

a) **b)**

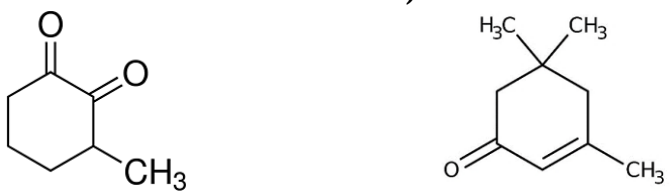


Figure 5. Structures chimiques du **(a)** cyclotène et de **(b)** l'α-isophorone.

Les caractéristiques olfactives de ces composés, proches des caractères « réglisse » et « frais » que peut exprimer le bouquet de vieillissement, ainsi que leur présence dans des vieux vins rouges et blancs, nous ont encouragé à les choisir pour notre étude moléculaire ciblée. L'adaptation récente au laboratoire d'une méthode de dosage, nous permettra d'observer leur présence ou non dans les vieux vins rouges de Bordeaux.

2.4.7 Composés soufrés pouvant avoir un impact positif sur l'arôme des vins

La présence de composés soufrés dans le bouquet de vieillissement est intuitive. En effet, les faibles transferts d'oxygène pendant le vieillissement en bouteille et l'environnement réducteur dans lequel se trouve le vin sont favorables à la formation et la conservation de composés volatils soufrés (Ugliano, 2013). D'ailleurs de nombreux ouvrages utilisent le terme « bouquet de réduction » à la place de « bouquet de vieillissement ». Les propriétés sensorielles des composés soufrés vont impacter positivement ou négativement l'arôme des vins en fonction des teneurs (Mestres et al., 2000a). La présence de certains composés soufrés dits « légers » (dont le point d'ébullition est inférieur à 90°C sous 1 bar) comme le sulfure d'hydrogène, le méthanethiol, l'éthanethiol évoquent des odeurs désagréables associées à des défauts dits de « réduction ». Des techniques de contrôle d'oxygène avant et après la mise en bouteille ainsi que l'utilisation de métaux chelatants ou de composés ayant une influence sur la balance rédox ont été testés afin de limiter la présence de ces composés en bouteille (Ugliano et al., 2011, 2012; Viviers et al., 2013). Au contraire, la présence en quantité raisonnable d'autres composés soufrés tels que le sulfure de diméthyle (DMS) ou les « thiols volatils » peuvent contribuer de façon positive à l'arôme des vins et à leur typicité (Tominaga et al., 1996, 1998; Anocibar Beloqui, 1998; Bouchilloux et al., 1998). En effet, des quantités de DMS, de 3-sulfanylhexanol et de 2-furanemethanethiol ont récemment été identifiées comme étant responsables de certaines notes aromatiques liées à la typicité du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux (Picard et al., 2015b).

Le DMS est largement répandu dans notre environnement. C'est un composé issu du métabolisme de nombreux biosystèmes en particulier de celui du milieu marin. Il est produit en abondance par les algues marines et émis dans l'atmosphère (Anness and Bamforth, 1982; Keller et al., 1989; Simpson et al., 1999). Le DMS est rencontré dans de nombreux aliments comme les oranges, les asperges cuites, le melon, les tomates et le cacao par exemple (Buttery et al., 1971; Lopez and Quesnel, 1976; Homatidou et al., 1992; Ueda et al., 1995; Ulrich et al., 2001). De plus, dans les boissons, le DMS fait partie de la composante aromatique du thé, du lait, des rhums, des bières et des vins (Anness and Bamforth, 1982; Anocibar Beloqui, 1998).

Le DMS est généralement présent en faibles concentrations dans les vins jeunes. C'est au cours du vieillissement du vin en bouteille que les teneurs de ce composé vont augmenter (Marais, 1979; de Mora et al., 1987; Anocibar Beloqui et al., 1996; Segurel et al., 2004; Fedrizzi et al., 2007a). Les teneurs en DMS dans les vins sont de l'ordre de 10 à 160 µg/L (Mestres et al., 2000a) et de l'ordre de 23 à 146 µg/L dans les vieux vins rouges vieux de Bordeaux (Picard, 2015). L'apparition du DMS dans les vins vieux implique la présence d'un précurseur. De plus, l'augmentation de ce composé se fait durant les 10 premières années du vieillissement du vin et cette évolution n'est pas linéaire. Les quantités en DMS varient en fonction des millésimes et probablement d'autres paramètres du terroir (de Mora et al., 1987; Anocibar Beloqui, 1998; Picard et al., 2015b). Ces différences peuvent être causées par des teneurs variables en précurseur dans les vins primeurs ou bien par des conditions de libération différentes. Ainsi, de nombreux facteurs peuvent influencer la libération et la préservation du DMS en bouteille. En effet, ses teneurs sont fortement liées à la température, au pH et à l'état d'oxydo-réduction des vins (Marais, 1979; Ugliano, 2013; Ferreira et al., 2014; Bekker et al., 2016; Franco-Luesma and Ferreira, 2016). Comme tout composé soufré, les propriétés sensorielles du DMS sont nombreuses et sa contribution à l'arôme des vins est très complexe. En fonction des teneurs, il peut contribuer de manière positive ou négative à l'odeur des vins. Le DMS a été jugé comme élément qui favorise la complexité des vins et élément qui participe au bouquet lorsqu'il est présent en quantité « modérées » (Marais, 1979; Spedding and Raut, 1982; Anocibar Beloqui, 1998; Segurel et al., 2004). Reste à définir cette valeur dite « modérée ». Enfin, le DMS a été récemment associé à la typicité du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux grâce à sa contribution aux notes « truffe » et « sous-bois » du bouquet et est également finement lié au niveau de complexité des vins (Picard, 2015). Dans un modèle de vin très éloigné, le DMS est également jugé comme composante indispensable au vieillissement qualitatif des vins de réserve de Champagne (Le Menn, 2018).

Nous porterons donc, dans cette thèse, une attention particulière au DMS et à sa contribution au bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux. Un état de l'art sur l'origine de ce composé, les paramètres affectant ses teneurs et les propriétés sensorielles en lien avec la matrice seront davantage explicitées dans la troisième partie de ce manuscrit.

Tableau 6. Molécules choisies pour l'analyse de la composition des vieux vins rouges de Bordeaux.

16 Terpènes	**9 Terpènes « menthés »**	**5 C_{13}-norisoprénoïdes**
Linalol Géraniol Nérol β-citronellol α-terpinéol Terpinèn-1-ol Terpinèn-4-ol 1-4-cinéole p-cyménène *p*-cymène Terpinolène α-terpinène α-phellandrène Nérolidol Farnésol	Limonène 1,8-cinéole Pipéritone Menthone Carvone Pulégone Mintlactone Menthylacétate Neomenthylacétate	β- damascénone TDN TPB 4 isomères de la tabanone
1 composé soufré		
DMS		
2 composés cycliques		
Cyclotène Isophorone		
33 esters		
6 EEAG Propanoate d'éthyle (C_3C_2) Butanoate d'éthyle (C_4C_2) Hexanoate d'éthyle (C_6C_2) Octanoate d'éthyle (C_8C_2) Décanoate d'éthyle ($C_{10}C_2$) Dodecanoate d'éthyle ($C_{12}C_2$)	**7 AAS** Acétate de propyle (C_2C_3) Acétate de 2-méthylpropyle (C_2iC_4) Acétate de butyle (C_2C_4) Acétate d'isoamyle (C_2iC_5) Acétate d'hexyle (C_2C_6) Acétate d'octyle (C_2C_8) Acétate de phényléthyle (PhC_2C_2)	**4 EEAS** 2-méthylpropanoate d'éthyle (iC_4C_2) 2-méthylbutanoate d'éthyle ($2\text{-}meC_4C_2$) 3-méthylbutanoate d'éthyle (iC_5C_2) Phénylacétate d'éthyle (PhC_2C_2)
3 esters éthyliques mineurs (pentanoate, heptanoate, nonanoate d'éthyle) **4 esters méthyliques** (butanoate, hexanoate, octanoate, décanoate de méthyle)	**3 esters isoamyliques mineurs** (butanoate, hexanoate et octanoate de 3-méthylbutyle) **3 esters aromatiques** (cinnamate d'éthyle, dihydrocinnamate d'éthyle, salicylate de méthyle)	**3 esters mineurs divers** (éthyl-*trans*-2-hexanoate, hexanoate d'isobutyle, méthyl-*trans*-géranate)
11 Composés issus du bois de chêne		
Furfural 5-méthylfurfural Gaïacol Eugénol *cis*-whisky-lactone *trans*-whisky-lactone Vanilline Acétovanillone Syringol Synringaldéhyde Acétosynringone		

2.5 Choix des méthodes et des molécules à quantifier dans les vieux vins

En filigrane de la définition sémantique et sensorielle, le bouquet de vieillissement doit posséder une définition moléculaire. L'arôme des vins est constitué de nombreuses molécules volatiles et certains composés présentés précédemment seraient impliqué dans l'expression du bouquet de vieillissement. De ce fait, en complément d'une étude sensorielle, l'étude élargie de la composition des vins par analyse ciblée des composés volatils connus pour être responsables des odeurs du bouquet doit être effectuée. À la lumière de l'étude bibliographique, les composés que nous avons identifiés pour l'exploration des vins vieux sont présentés dans le **Tableau 6**.

Des méthodes d'analyse chromatographiques associées à des techniques d'extraction en phase solide ou liquide (Andujar-Ortiz et al., 2009; Azzi-Achkouty et al., 2017) seront mises en œuvre pour quantifier ces composés. Pour répondre aux objectifs et pour adapter les sensibilités des méthodes aux quantités attendues, de nombreux détecteurs couplés à la chromatographie en phase gazeuse sont aujourd'hui utilisés en fonction des enjeux analytiques (Perestrelo and Câmara, 2020). La spectrométrie de masse est une technique de détection assez robuste et sensible, qui permet de détecter et quantifier des composés de l'ordre du µg/L voire du ng/L. Certaines méthodes seront développées *had hoc* ou bien exploitées au travers de collaborations. Les techniques utilisées pour quantifier les composés ciblés seront davantage explicitées dans la partie matériels et méthodes de la Partie 1, chapitre 3 de ce manuscrit.

Cette description à la fois sensorielle et moléculaire nous permet d'entamer cette étude sur le bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux. La première question que nous nous sommes posée et qui animera ce chapitre est « **Comment les vins rouges de Bordeaux se différencient au cours du vieillissement d'un point de vue sensoriel et moléculaire ?** ». Ces premières réponses nous permettront de conduire notre réflexion en nous attachant particulièrement à la génèse du bouquet de vieillissement

Chapitre 2. Expression sensorielle des vins rouges de Bordeaux âgés de 11 à 28 ans

1. INTRODUCTION

Les propriétés aromatiques du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux sont une information indispensable pour le dégustateur, qui a besoin de reconnaître les vins présentant un bouquet de ceux n'en présentant pas. Cette connaissance est aussi indispensable au technicien, qui a besoin d'optimiser ses pratiques afin de produire des vins de garde. La première identification d'attributs sensoriels spécifiques du bouquet de vieillissement (*« sous-bois », « truffe », « fruits frais rouges et noirs », « épicé », « réglisse », « menthe » et « grillé »*) effectuée lors de l'étude de Picard (2015), aura été une avancée importante. Une fois les bases sensorielles du concept établies, il s'agit de caractériser quel(s) composé(s) volatil(s) serai(en)t lié(s) à l'expression du bouquet. Étant donné la richesse des terroirs bordelais, l'expression des vins des différents crus pourrait donner des signatures olfactives nuancées. De plus, « l'effet millésime » est à prendre en compte dans l'expression et la composition moléculaire des vins.

L'objectif de ce chapitre est de sélectionner des échantillons de vins représentatifs de « bons modèles » ou « mauvais modèles » du bouquet de vieillissement et, par la suite, de tenter de caractériser les nuances aromatiques du bouquet de vieillissement dans les sous-régions de l'espace bordelais. Nous nous demanderons s'il existe des points aromatiques de différenciation ou de ressemblance entre les crus étudiés.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Vins étudiés

Quatre-vingts vins rouges de la région bordelaise ont été sélectionnés pour l'étude. Il s'agit de séries de vins issus de sept crus, dont les millésimes sont compris entre 1990 et 2007 (« verticales »). Les appellations ainsi que le nom de ces crus sont soumis à la confidentialité. Le **Tableau 7** présente les échantillons mais n'est pas autorisé à la diffusion. Pour cette étude, une seule bouteille de chaque millésime a été fournie. De ce fait, il n'existe pas de bouteille de secours en cas de contamination d'un

échantillon et les volumes disponibles sont limités à 0,75 L. La dégustation des vins ainsi que l'analyse chimique (chapitre 3) ont été effectuées sur une seule et même bouteille.

2.2 Panels de dégustateurs

Les 80 vins étudiés ont été dégustés par un total de 24 personnes (7 femmes, 17 hommes, âgés de 25 à 60 ans), conviés dans la salle d'analyse sensorielle l'Unité de Recherche Œnologie de l'Institut des Sciences de la Vigne et du Vin situé à Villenave d'Ornon (Gironde, France). Ces dégustateurs sont des professionnels de la filière viti-vinicole (directeurs techniques, responsables vignobles, maître de chai, responsable qualité, responsable R&D, œnologues). Ils ont tous été formés à la dégustation des vins et sont familiers avec celle des vins rouges puisqu'ils participent régulièrement à des dégustations dans leurs propriétés et lors des évènements viticoles. Ils présentent un important degré de familiarisation avec le produit. Un numéro de dégustateur a été attribué à chaque membre.

2.3 Organisation et conditions de dégustation

2.3.1 Organisation

Les séances de dégustation ont débuté en janvier 2018. Elles se sont organisées en fonction de la disponibilité du panel avec au minimum 12 personnes par séance. Plusieurs séances ont été mises en place pour pouvoir déguster entre une et deux séries dites « verticale » de vins par jour. Le recours à un unique panel n'a pas pu être possible étant donné l'emploi du temps contraint de chacun des membres. Donc, les 80 vins issus des verticales des 7 crus ont pu être dégustés en 4 séances de dégustations entre janvier et avril 2018. Les caractéristiques de chaque panel (panel A, B, C et D), les verticales dégustées ainsi que la participation des 24 dégustateurs aux séances sont notés dans le **Tableau 8**. Par séance, le numéro de passage du dégustateur sera noté dans sa case par la lettre S suivie de son numéro de passage.

Le tableau 7 n'est pas autorisé à la diffusion.

Tableau 7. Caractéristiques (appellations, crus, millésimes et codes) des 80 vins rouges de Bordeaux étudiés. **Diffusion non autorisée.**

	Appellations	Crus	Millésimes étudiés et codes										
			1990	1995	1996	1998	1999	2000	2001	2002	2004	2005	2006	2007
Rive droite	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**											
Rive gauche	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**											

Tableau 8. Caractéristiques des panels de dégustation (D : numéro d'attribution au dégustateur, S : numéro de passage, Nb deg. : nombre de dégustateurs, % Femmes). En gris : participation du dégustateur à la séance. En blanc : pas de participation du dégustateur.

	Dégustateurs																										
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D13	D14	D15	D16	D17	D18	D19	D20	D21	D22	D23	D24	**Nb Dég.**	**% F**	**Âge**
Panel A (Verticale N°1)	S1	S2	S3		S4	S5	S6			S7	S8		S9		S10							S11	S12	S13	13	15	30-60 ans
Panel B (Verticales N°2 et 3)	S13 S10		S6 S3	S4 S2	S8 S5	S5 S8	S7 S1	S1 S7			S2 S4	S3 S6	S11 S15	S15 S11	S9 S13	S10 S14	S12 S9					S14 S12			15	27	30-60 ans
Panel C (Verticales N°4 et 5)	S8 S12		S3 S6	S4 S4		S5 S1	S1 S8		S2 S7	S7 S3	S6 S2		S11 S14	S14 S11	S9 S5			S12 S15	S10 S13	S15 S9		S13 S10			15	40	25-60 ans
Panel D (Verticales N° 6 et 7)	S1 S1					S2 S5	S7 S4		S5 S2	S4 S6	S3 S3		S11 S8	S9 S11	S8 S12					S7 S10	S10 S7	S12 S9			12	33	25-60 ans

2.3.2 Préparation

Les bouteilles ont été récoltées dans les domaines environ 3 semaines avant la date de dégustation prévue. Quelques jours avant chaque séance, un prélèvement d'environ 40 mL a été effectué au travers du bouchon à l'aide du CORAVIN™ afin de doser les défauts (phénols volatils, IBMP, la géosmine, le TCA et les autres anisoles) ainsi que le DMS et son précurseur. Le protocole des méthodes sera décrit dans le Chapitre 3, paragraphe 2.3, page 75. Les vins qui contenaient des anisoles et/ou de la géosmine n'ont pas été présenté lors de la dégustation.

2.3.3 Conditions des dégustations

Les échantillons étaient évalués dans des boxs individuels, dans la salle d'analyse sensorielle de l'Unité de Recherche Œnologie conforme à la norme internationale NF EN ISO 8589 : 2010. Des échantillons de 20 mL de vin ont été présentés dans des verres INAO couverts d'une boîte de Pétri et codés par un nombre à trois chiffres. Chaque verticale de 12 millésimes a été divisée en 2 séries de 6 échantillons. Chaque série était constituée de vins issus de deux catégories arbitraires d'âges (Série 1 : années 1990 à 2000, Série 2 : années 2000 à 2007). À l'intérieur de la série, l'ordre de présentation des échantillons était spécifique pour chaque panéliste (Martin and de Revel, 1999). Afin de ne pas être influencé par la couleur, les vins ont été servis dans des verres noirs à température régulée (20°C). Le renouvellement du vin dans les verres a été fait entre chaque dégustateur, en raison de la volatilité de certaines molécules.

2.4 Exercices de dégustation

Les dégustateurs professionnels devaient réaliser deux types d'exercices lors des séances de dégustation. Ces deux exercices étaient effectués sur les mêmes échantillons, une série après l'autre.

2.4.1 Exercice 1 : tâche de typicité

Dans un premier temps, les dégustateurs devaient réaliser une tâche de typicité. Ils devaient effectuer une dégustation globale des vins (analyse ortho- et rétro nasale) dans l'ordre indiqué sur la fiche de dégustation. Pour chaque vin, les panélistes devaient répondre à l'intitulé suivant : « *Imaginez ce que pourrait être un vin vieux présentant un « bouquet de vieillissement ». Pour chaque échantillon, vous devez vous demander s'il s'agit d'un bon ou mauvais exemple* ». Les sujets devaient positionner leur réponse sur une échelle continue de 10 cm bornée à gauche par « mauvais exemple » et à droite par « bon exemple » (Annexe 1). Cette méthodologie s'inspire de l'étude menée par Ballester (Ballester et

al., 2005). Après cet exercice, les fiches des panélistes étaient retirées afin qu'ils puissent démarrer le second exercice.

2.4.2 Exercice 2 : profils sensoriels

Après avoir récupéré la fiche du premier exercice, les dégustateurs avaient la possibilité de faire une pause s'ils le souhaitaient, sinon ils devaient réaliser un profil aromatique des échantillons (analyse orthonasale uniquement), toujours en suivant l'ordre indiqué sur la fiche de dégustation. Les échantillons étaient présentés dans le même ordre que celui adopté pour la tâche de typicité et spécifique à chaque dégustateur. Les intensités des descripteurs aromatiques de « *fruits frais rouges et noirs* », « *sous-bois* », « *truffe* », « *menthe* », « *réglisse* », « *grillé* », « *épicé* » ont été évalués sur une échelle continue de 10 cm bornée à gauche par le terme « peu intense » et à droite par le terme « très intense » (Annexe 2). Après avoir évalué l'intensité des descripteurs d'un échantillon, ils pouvaient, s'ils le souhaitaient, ajouter des commentaires libres dans une partie réservée à cet effet.

2.5 Analyses statistiques

Le logiciel XLSTAT 2019 (Addinsoft, Paris, France) a été utilisé pour l'analyse statistique des résultats.

2.5.1 Analyse en composantes principales

Les notations issues de la tâche de typicité de chaque dégustateur pour tous les échantillons ont été converties en données numériques (X cm étaient convertis en une note de X avec une précision de 0,1). Ensuite, une analyse en composante principale (ACP) a été réalisée sur les notes de typicité émises pour chaque échantillon par chaque dégustateur. Cette approche, à la fois géométrique et statistique, permet de représenter des variables (composantes) dans un nouvel espace afin de rechercher des axes indépendants qui expliquent au mieux la variabilité des données. Les ACP ont été réalisées dans le but d'évaluer le consensus entre les dégustateurs pour l'exercice « tâche de typicité » et pour chaque descripteur de l'exercice « profil aromatique ». Cette analyse a été couplée à une matrice de corrélation entre les variables. Le test de corrélation permet de mesurer l'association entre deux variables quantitatives qui jouent des rôles symétriques. Ce test peut être considéré comme une analyse non-paramétrique ne nécessitant pas de condition d'application puisque les données des variables mesurées sont transformées en classement par rangs. Ce test peut mettre en évidence des corrélations non-linéaires et/ou linéaires. Avant de choisir de l'appliquer, la normalité des données doit être vérifiée grâce au test de Shapiro-Wilk. Si les données ne suivent pas la loi normale (p-value < 0,05) le test de Spearman est choisi, sinon l'équivalent paramétrique de Pearson doit être employé.

2.5.2 Classification ascendante hiérarchique

La classification ascendante hiérarchique a été utilisée afin de constituer des groupes de vins ayant des caractères organoleptiques proches. Les observations (vins) au sein d'un groupe sont homogènes (critère de compacité) et différenciées des observations d'un autre groupe (critère de dissimilarité). Les observations sont regroupées par ressemblance à partir des variables quantitatives qui définissent ces observations. Ce test statistique conduit à la construction d'un arbre de classification (dendrogramme) qui permet de visualiser la composition des groupes et la proximité entre les observations. La ressemblance entre les objets d'un groupe ou le degré de dissimilarité entre les groupes est calculé par le biais de la distance Euclidienne. La méthode de Ward a été utilisée comme critère d'agrégation.
Dans le cadre de notre étude, la production de vins issus de différents châteaux, différents millésimes, différents terroirs pourrait impliquer la présence d'une variabilité entre les modalités. Donc, l'emploi de la CAH permet de constituer des groupes de vins homogènes selon leur critère de typicité du bouquet de vieillissement afin d'identifier des vins les plus représentatifs du concept de typicité étudié.

2.5.3 Analyses paramétriques et non paramétriques

Afin de compléter les données visuelles de l'ACP, les résultats des profils sensoriels ont été également analysés par des tests paramétriques et non-paramétriques afin de justifier s'il existe au moins une différence significative entre les produits pour un descripteur donné. Le test paramétrique ANOVA est utilisé lorsque les conditions de validité du modèle sont respectées. La normalité des résidus a été effectuée par le test de Shapiro-Wilk et l'homogénéité des variances par le test de Levene. Une fois ces conditions respectées, l'analyse de variance ANOVA a pu être effectuée. Cette analyse s'effectue sur des données centrées-réduites dans le cas d'une étude sensorielle. Une comparaison détaillée des objets a été effectuée par le test de Tukey. Lorsque les conditions de validation n'étaient pas respectées, un test non paramétrique de Friedman était appliqué pour le type d'échantillons appariés (dégustés le même jour). Par la suite, une comparaison détaillée des objets était effectuée à l'aide du test de comparaison par paire de Steel-Dwass-Critchlow-Fligne.

a)

Diffusion non autorisée

b)

Diffusion non autorisée

Figure 6. (a) Cercles de corrélation de l'analyse en composantes principales (ACP) illustrant le consensus entre les dégustateurs professionnels pour chaque verticale dégustée et **(b)** la répartition des vins de chaque Château. **Diffusion non autorisée.**

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Évaluation de la typicité du bouquet de vieillissement

3.1.1 Degré de consensus entre les dégustateurs

Avant l'étape de dégustation, les principaux défauts des vins ont été analysés afin d'éliminer les échantillons qui pouvaient altérer l'évaluation du bouquet de vieillissement.

[…] – Diffusion non autorisée.

Lors des séances, les dégustateurs professionnels ont dû évaluer la typicité du bouquet de vieillissement d'un total de 80 vins rouges âgés de 11 à 28 ans issus de 7 crus du bordelais au cours de 4 sessions de dégustation réalisées au début de ce projet de thèse. Comme déjà précisé, il nous a été impossible de réunir un même panel pour ces 4 sessions. Donc, 4 panels de 12 à 15 dégustateurs se sont investis (**Tableau 8**).
Les premiers résultats de l'exercice « tâche de typicité » sont présentés sur la **Figure 6**. Les notes de typicité données par les dégustateurs sont projetées sur les deux premières composantes principales des ACP de chaque Château (**Figure 6**a) et ainsi, le consensus entre les membres des panels peut être estimé.

[…] – Diffusion non autorisée.

Ensuite, un calcul du score de consensus pour chaque descripteur a été effectué (**Tableau 9** « score de consensus % »). Il s'agit de modéliser le nombre de dégustateurs qui s'accordent sur l'évaluation des vins ainsi que la qualité de cet accord. Cette stratégie avait été proposée par Le Menn (2018). Le calcul du score de consensus intègre à la fois, la variance maximale des notes données par les dégustateurs pour un attribut (ici « typicité ») et la projection des juges que ce soit sur la partie positive et négative de l'axe.
La projection orthogonale de chaque variable (dégustateurs) sur l'ACP est normalisé en une valeur allant de -1 à +1 que l'on notera dans notre tableau « coordonnées des dégustateurs sur l'axe F1 ». Pour calculer le score de consensus, il s'agit de multiplier le pourcentage de la variance totale expliquée par F1 avec la moyenne des coordonnées des dégustateurs sur l'axe F1.

On peut résumer le calcul par la formule ci-après.

$$Sc = \frac{\Sigma \mathrm{D1, D2, D3, \dots, Dn}}{n} x(\%VarCP)$$

Sc = Score de consensus (%)
Dn = Coordonnées en projection orthogonale de la variable correspondante au dégustateur « n » pour la composante principale porteuse du consensus maximal observable (ici F1)
%VarCP = pourcentage de variance expliquée par la composante porteuse du consensus

[…] – Diffusion non autorisée.

La Figure 6 et le Tableau 9 ne sont pas autorisés à la diffusion. Par conséquent, les résultats et discussions associés ont été supprimés pour cette version de diffusion.

Ensuite, pour plus de visibilité, le score de consensus a été exprimé en pourcentage. La colonne « % du score de consensus qui permet d'expliquer F1 » exprime la part du score de consensus dans la valeur du pourcentage de variance totale expliquée par F1 (%VarCP) et se calcule en divisant chaque score de consensus par le %VarCP. L'objectif est de sélectionner les vins pour lesquels les dégustateurs s'accordent afin d'effectuer une confrontation entre les données de dégustation et les données d'analyses chimiques. Pour cela, un seuil arbitraire de rejet a été positionné à 40%. Les « verticales » pour lesquelles le consensus entre les dégustateurs est inférieur à 40% n'ont pas été sélectionnées pour la suite du raisonnement.

[…] – Diffusion non autorisée.

On peut considérer qu'il existerait pour ces Châteaux, un potentiel consensus entre les dégustateurs concernant le jugement de la typicité du bouquet de vieillissement. Reste à étudier l'existence de bons et de mauvais exemples de bouquet de vieillissement.

Tableau 9. Synthèse des scores de consensus des dégustateurs concernant le jugement de typicité du bouquet de vieillissement pour chaque verticale dégustée.
En rouge et gris, les juges ayant évalué la typicité avec moins de 25% de correspondance par rapport au consensus du panel. **Diffusion non autorisée.**

		Coordonnées des dégustateurs sur l'axe F1 (les numéros S sont l'ordre de passage des sujets)																	
Verticale	% de la variance totale expliquée par F1	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	**Score du consensus %**	**% du Sc qui permet d'expliquer F1**	% de dég. à l'écart du consensus (<25%)
	Séance 1 – Panel A																		
1	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**															**Diffusion non autorisée**		
	Séance 2 – Panel B																		
2	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**															**Diffusion non autorisée**		
3																			
	Séance 3 – Panel C																		
4	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**															**Diffusion non autorisée**		
5																			
	Séance 4 – Panel D																		
6	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**															**Diffusion non autorisée**		
7																			
Cas du consensus parfait	*100*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*	*100*	*100*	*0*

a)

Diffusion non autorisée

b)

Figure 7. (a) Classifications ascendantes hiérarchiques (CAH) des vins des Châteaux V, S, F et T en fonction de la note de typicité et **(b)** gradient de typicité des vins classés selon la CAH. **Diffusion non autorisée.**

3.1.2 Existence d'un gradient de typicité

Pour les « verticales » de vin sélectionnées, les données de typicité ont été soumises à l'analyse statistique. Les dendrogrammes issus de la CAH ont été représentés pour chaque verticale. Comme les panels étaient différents pour ces 4 séries, plusieurs classifications ont été réalisées. Trois groupes de vins ont ainsi pu être identifiés au sein de chaque classification et sont présentés sur la **Figure 7**a.

[…] – Diffusion non autorisée.

Malgré des conditions contraintes de mise en œuvre des séances de dégustation, plus de la moitié des vins présentés au début du projet ont pu être triés en fonction de la typicité de leur bouquet de vieillissement. L'analyse par CAH a permis de réaliser des groupes de vins établis en fonction de leur image sensorielle. Le **Tableau 10 s**ynthétise la répartition des vins (classifications confondues) suivant les 3 catégories de typicité.

La Figure 7 et le Tableau 10 ne sont pas autorisés à la diffusion. Par conséquent, les résultats et discussions associés ont été supprimés pour cette version de diffusion.

Tableau 10. Catégories de typicité et classement des vins à la suite de l'analyse CAH. **Diffusion non autorisée.**

Vins considérés typiques	Vins intermédiaires	Vins considérés atypiques
Diffusion non autorisée	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**

Les notes de typicité des vins forment un gradient depuis les « mauvais exemples de typicité » vers les « bons exemples » **(Figure 7**b). Ce résultat avait déjà été observé par Picard (2015). Il souligne le caractère complexe du concept. La notion de typicité ne semble pas être « tout ou rien » mais un continuum sans délimitations claires. Pour cette sélection de vins (tous de grande qualité), ce continuum ne semble pas être dépendant uniquement du millésime car au sein de chaque verticale, on retrouve des millésimes quelques fois jugés « typiques » et d'autres fois « atypiques ».

[…] – Diffusion non autorisée.

Cette observation de non-existence d'une catégorisation binaire stricte a déjà été observée dans d'autres études sur des concepts sensoriels. Par exemple, la représentation du concept des vins de chardonnay ou du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux, par de bons ou de mauvais exemples, semble reposer sur un gradient de représentativité (Ballester et al., 2005; Jaffré et al., 2011; Picard et al., 2015a).

Ces premiers résultats mettent en évidence plusieurs idées.

- L'étude de ce concept sensoriel fait référence à des échantillons de vin à caractère qualitatif confirmé. Il est donc plus difficile, pour un panel, de devoir juger des vins au sein d'une catégorie assez uniforme. Pour les défauts des vins, l'apprentissage permet aux dégustateurs de donner des réponses binaires et catégoriques tels que « oui le vin présente un défaut » ou « non le vin n'a pas de défaut ». Cependant, la qualité d'un vin est un jugement large et complexe, dont les fondements théoriques sont élucidés (Smith, 2007) mais les transpositions pratiques sont encore fragiles. En effet, la qualité perçue d'un vin est souvent différente entre les individus, leur expérience, leur niveau d'expertise et leurs projets pour le produit (Charters and Pettigrew, 2006; Hopfer and Heymann, 2014).
- Le consensus entre les membres du panel s'accorderait davantage sur le jugement de la « non-typicité » des vins. Ce point-là avait déjà été observé par Picard, (2015), lors de l'étude du concept du bouquet de vieillissement sur une autre sélection de vin.
- Le jugement de la typicité du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux est d'une part, panel-dépendant. Les différences de jugement de typicité varient fortement entre les membres du panel et le recours à 4 panels différents ne nous permet pas d'avoir une homogénéité dans le jugement de typicité.

- D'autre part, ce jugement est matrice-dépendante. Les études du concept de « potentiel de vieillissement » menées par Le Menn (2018) ont démontré que celui s'organisait autour de trois dimensions reliées qui sont : le temps, la qualité du vin et le niveau du potentiel (faible, moyen, fort). De ce fait, l'âge « réel » du vin n'est pas linéairement relié à l'âge « sensoriel » perçu lors de la dégustation. Par exemple, des vins vieux peuvent paraître plus jeunes que leur âge réel (ou inversement) et dans ce cas, présenter de forts potentiels de vieillissement. Dans notre étude, certains échantillons présentaient encore de forts potentiels de vieillissement et cela a pu générer des confusions dans le jugement de typicité au moment de la dégustation. Les professionnels du vin ayant pour habitude de se projeter lors de l'analyse de leur vin au moment des vinifications, ont peut-être réalisé inconsciemment le même schéma pour les vins de l'étude dont le potentiel de vieillissement est élevé. Le recours à une autre technique d'analyse sensorielle (à l'aide de courbes), récemment développée et mise en œuvre sur des vins de réserve de Champagne, aurait pu faciliter l'analyse du bouquet de vieillissement. Cette technique permet à la fois de juger le vieillissement à l'instant *t* mais de visualiser également le potentiel de vieillissement du vin (Le Menn, 2018; Le Menn et al. *en préparation*). Elle permettrait de renseigner si le bouquet est « acquis » ou « à venir ».

[…] – Diffusion non autorisée.

3.2 Évaluation des caractéristiques sensorielles du bouquet de vieillissement des vins étudiés

3.2.1 Degrés de consensus entre les dégustateurs pour l'évaluation des intensités des descripteurs aromatiques

Une fois que les dégustateurs ont évalué la typicité du bouquet de vieillissement des vins, ils devaient évaluer l'intensité des descripteurs aromatiques associés au concept du bouquet. De part l'analyse orthonasale uniquement, ils devaient évaluer les descripteurs « fruits frais rouges et noirs », « sous-bois », « truffe », « menthe », « réglisse », « grillé » et « épicé » sur une échelle de 0 à 10.

Tout comme pour l'exercice de typicité, le consensus entre les membres du panel pour chaque attribut a dû être vérifié. La même démarche que pour la tâche de typicité a été suivie. Tout d'abord, une analyse en composantes principales a été effectuée pour chaque descripteur et pour chaque Château. Ensuite, le calcul du score de consensus a également été effectué pour chaque descripteur en prenant en compte la part du score de consensus qui explique la variance expliquée par F1 (% Sc. expliquant F1). Un seuil

arbitraire de rejet a été positionné à 40%. Un regard sur les dégustateurs est également apporté. Le nombre de dégustateurs et ainsi le % de dégustateurs à l'écart du consensus (% de dégustateur qui jugent le descripteur à plus de 25% d'écart de l'avis commun) est ainsi calculé afin de visualiser la capacité des membres des panels à évaluer les odeurs de manière semblable. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 11**.

Le Tableau 11 n'est pas autorisé à la diffusion. Par conséquent, les résultats et discussions associés ont été supprimés pour cette version de diffusion.

3.2.2 Identification des descripteurs aromatiques discriminants entre bons et mauvais exemples du bouquet de vieillissement

Après évaluation du consensus entre les dégustateurs concernant les descripteurs aromatiques, les données de typicité du bouquet de vieillissement ont été confrontées aux intensités des descripteurs du bouquet déterminées dans les vins. L'intensité du descripteur « fruits frais rouges et noirs » a été quantifié dans les catégories « bons exemples », « exemples intermédiaires », « mauvais exemples » du bouquet issues des analyses CAH (**Figure 7**). Les descripteurs « sous-bois » et « truffe » ont été jugés de manière consensuelle pour deux verticales sur quatre, donc les intensités de ces deux descripteurs ont été quantifiées dans ces 24 vins pour les 3 catégories d'exemplarité du bouquet.

Le **Tableau 12** regroupe ces données d'intensité minimale, maximale et moyennes de chaque descripteur au sein de chacune des catégories de typicité. Les résultats montrent que seuls les descripteurs « truffe » et « sous-bois » sont perçus significativement plus intenses dans les vins présentant un bouquet de vieillissement (p-value < 0,0001, **Tableau 12**, **Figure 8**). En revanche, le descripteur « fruits frais rouges et noirs » ne permet pas de discriminer les deux catégories de vins. Ceci nous permet de penser que le caractère fruité des vins vieux est nécessaire mais pas suffisant pour identifier un bouquet de vieillissement dans les vins. En revanche, les notes « sous-bois » et « truffe » auraient un impact significatif sur le jugement de la typicité. Ces résultats rejoignent exactement ceux observés par Picard (2015) où ces deux derniers descripteurs permettaient de discriminer les bons exemples des mauvais exemples de bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux.

Tableau 11. Synthèse des scores de consensus des dégustateurs concernant l'intensité des descripteurs du bouquet de vieillissement entre les membres des panels pour chaque « verticale » dégustée. En vert : le % de score de Sc. expliquant F1 > 40%. **Diffusion non autorisée.**

		Panel A	*Panel B*		*Panel C*		*Panel D*	
		Verticale 1	**Verticale 2**	**Verticale 3**	**Verticale 4**	**Verticale 5**	**Verticale 6**	**Verticale 7**
Fruits frais rouges et noirs	**% Sc. expliquant F1**	**Diffusion non autorisée**						
	% de dégustateurs à l'écart du consensus	**Diffusion non autorisée**						
Sous-bois	**% Sc. expliquant F1**	**Diffusion non autorisée**						
	% de dégustateurs à l'écart du consensus	**Diffusion non autorisée**						
Truffe	**% Sc. expliquant F1**	**Diffusion non autorisée**						
	% de dégustateurs à l'écart du consensus	**Diffusion non autorisée**						
Menthe	**% Sc. expliquant F1**	**Diffusion non autorisée**						
	% de dégustateurs à l'écart du consensus	**Diffusion non autorisée**						
Réglisse	**% Sc. expliquant F1**	**Diffusion non autorisée**						
	% de dégustateurs à l'écart du consensus	**Diffusion non autorisée**						
Grillé	**% Sc. expliquant F1**	**Diffusion non autorisée**						
	% de dégustateurs à l'écart du consensus	**Diffusion non autorisée**						
Épicé	**% Sc. expliquant F1**	**Diffusion non autorisée**						
	% de dégustateurs à l'écart du consensus	**Diffusion non autorisée**						

Tableau 12. Mesure du niveau d'intensité (note/10 : minimales ; maximales, moyenne ± écart-type des 3 descripteurs aromatiques consensuels).
*** : p-value < 0,001, ns : non significatif

	Fruits frais rouges et noirs				**Sous-bois**					**Truffe**			
	Intensité					*Intensité*				*Intensité*			
	Minimale	*Maximale*	*Moyenne*	p-value		*Minimale*	*Maximale*	*Moyenne*	p-value	*Minimale*	*Maximale*	*Moyenne*	p-value
Bons exemples *(n=19)*	3,0	5,4	3,9 ± 0,6	ns	**Bons exemples *(n=9)***	3,9	6,1	5,2 ± 0,7	**0,0001 *** **	3,8	5,2	4,5 ± 0,5	**0,0001 *** **
Mauvais exemples *(n=13)*	1,7	6,0	4,2 ± 1,3		**Mauvais exemples *(n=6)***	2,2	4,3	3,2 ± 0,9		1,5	3,7	2,4 ± 0,8	

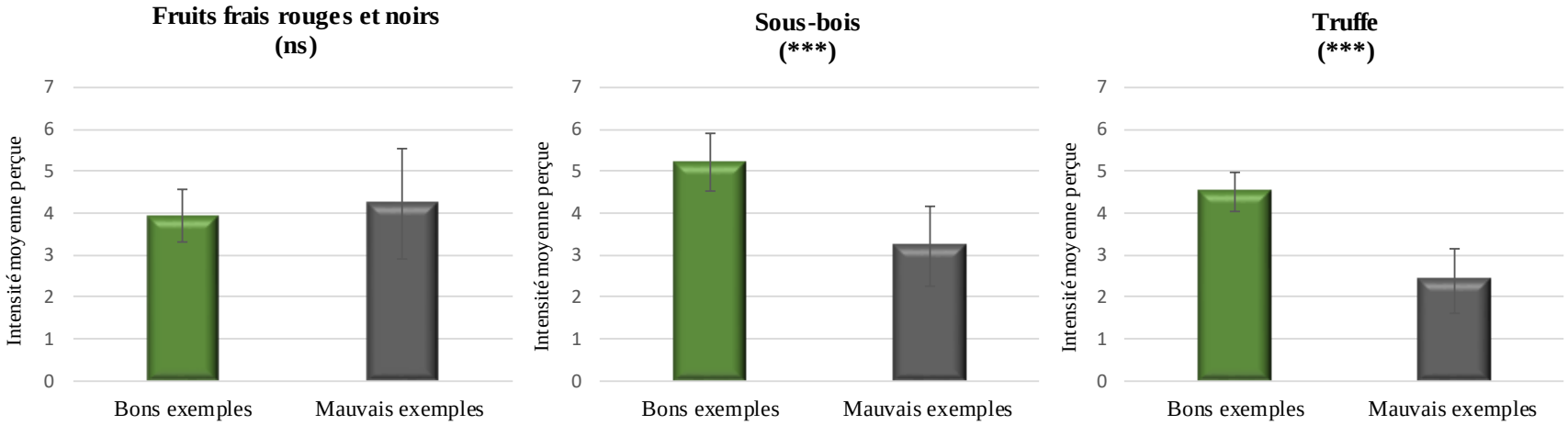


Figure 8. Intensité moyenne des 3 descripteurs aromatiques en fonction des bons et mauvais exemples de vieillissement.

3.3 Profils sensoriels des vins et essais de discriminations (rives et crus)

La réalisation de profils sensoriels des vins étudiés grâce à l'évaluation de l'intensité aromatique des 7 descripteurs associés au bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux nous a permis, dans un premier temps, de faire le lien entre l'intensité des descripteurs et les bons modèles de vieillissement. Dans un second temps, il est intéressant de regarder s'il existe une typologie aromatique des rives ou même des crus au sein des rives. En effet, la richesse des terroirs bordelais, les différents cépages implantés, les effets des millésimes et les assemblages nous permettent de poser l'hypothèse selon laquelle le vieillissement d'un vin de Saint-Émilion, par exemple, n'exprimera pas les mêmes notes aromatiques qu'un vin de Pauillac.
La stratégie employée pour cette partie est, dans un premier temps, de visualiser par une analyse ACP et de déterminer par comparaison de variances (ANOVA), si les intensités des descripteurs aromatiques (consensuels) des échantillons de vins sont différentes en fonction de leur appartenance à l'une des deux rives. Si jamais une discrimination des rives a lieu, la même stratégie sera mise en œuvre avec les crus de l'étude. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 13**.

Le Tableau 13 n'est pas autorisé à la diffusion. Par conséquent, les résultats et discussions associés ont été supprimés pour cette version de diffusion.

Tableau 13. Intensité moyenne (± écart-type) des 3 descripteurs aromatiques en fonction des zones de production des vins et des crus. ns : non significatif. **Diffusion non autorisée.**

	Fruits frais rouges et noirs	**Sous-bois**	**Truffe**
		Rives	
Droite	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**
Gauche	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**
p-value	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**
		Crus	
p-value	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**

4. CONCLUSIONS

Diffusion non autorisée.

Chapitre 3. Approche analytique ciblée pour l'étude de la composition aromatique des vieux vins rouges de Bordeaux

1. INTRODUCTION

L'évaluation de la typicité du bouquet de vieillissement ainsi que l'établissement des profils sensoriels des vins basés sur la notation de l'intensité des 7 descripteurs associés au bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux a été présenté au cours du chapitre 2 de cette première partie. Malgré l'absence d'un consensus clair entre les membres des panels, cette étude a tout de même confirmé la présence d'un gradient de typicité du bouquet de vieillissement allant de « mauvais modèles » à « bons modèles » de vieillissement. Les caractères aromatiques « sous-bois » et « truffe » sont jugés plus intenses et permettraient de discriminer les bons des mauvais modèles de vieillissement, alors que les nuances de « fruits frais rouges et noirs » seraient plutôt nécessaires aux vins qui, ainsi, gardent leur jeunesse apparente. Malgré tout, ces résultats ne nous permettent pas de définir des typologies aromatiques par la voie sensorielle.
Une étude basée sur la quantification ciblée de composés chimiques potentiellement impliqués dans le vieillissement qualitatif des vins rouges est envisagée. Des composés issus de différentes familles chimiques, connus pour leurs propriétés odorantes proches des descripteurs aromatiques du bouquet ont été choisis. Certains composés comme les composés volatils issus du bois de chêne, le sulfure de diméthyle, quelques terpènes et C_{13}-norisoprénoïdes ont déjà été quantifiés dans les vieux vins rouges de Bordeaux et leurs contributions à la typicité ainsi qu'aux composantes aromatiques du bouquet ont également été étudiées (Picard, 2015). L'hypothèse selon laquelle le bouquet prendrait naissance dans le raisin et serait révélé par le passage du temps a commencé à être consolidée par ces premiers travaux. Pour continuer de travailler sur cette hypothèse, des molécules pouvant potentiellement exprimer les notes aromatiques du bouquet et ayant une origine végétale doivent être quantifiées dans les vieux vins.

Le premier objectif de ce chapitre est d'étudier la richesse et la diversité moléculaire des crus étudiés. Nous tenterons de répondre à la question : **« La composition chimique explique-t-elle les différentes caractéristiques sensorielles des vins (typicité, descripteurs) ? »** Pour cela, une stratégie de quantification de nombreux composés dans les vins et la confrontation de leurs teneurs avec les notes obtenues lors de l'étude sensorielle sera effectuée.
Le deuxième objectif de ce chapitre sera de vérifier s'il existe des molécules ou familles de molécules qui caractérisent le vieillissement qualitatif des rives et des crus étudiés. Cette fois-ci, la question à laquelle nous devons essayer de répondre est : **« Existe-il une identité moléculaire qui explique la**

différence entre les crus ? ». La réponse nous permettra de compléter les premières observations du chapitre sensoriel sur la tentative de caractérisation de typologie de crus.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Vins étudiés

Les vins étudiés pour cette analyse chimique ciblée sont les mêmes que ceux présentés lors de l'étude sensorielle (Chapitre 2, paragraphe 2.1, page 55). Il s'agit des « verticales » de crus du bordelais où l'on compte 12 millésimes pour 6 Châteaux et 8 millésimes pour le dernier. Ils sont compris entre 1990 et 2007 (**Tableau 7 –** soumis à la confidentialité). À l'exclusion des dosages des défauts et du DMS, les autres ont été effectués sur des échantillons aliquotés et congelés à la température de -18°C.
Pour chaque référence de vin, les dosages ont été effectués sur la même bouteille que celle analysée lors des dégustations. Ce point est une obligation des projets qui portent sur les vins naturellement vieillis. En effet, d'une part les échantillons de vins vieux sont rares et donc coûteux. Nous pouvons donc les qualifier d'échantillons « précieux ». Cela nous invite à limiter les volumes de prise d'essai pour pouvoir répliquer les analyses (et donc travailler sur la justesse des résultats) mais aussi, pour pouvoir déployer (comme c'est le cas dans ce projet) un large panel de molécules à quantifier. Si l'on pouvait faire abstraction de la rareté des échantillons, nous aurions eu à considérer le fait que les bouteilles peuvent évoluer de manière différente. Les bouchons peuvent être différents en termes de structure, de perméabilité à l'oxygène mais aussi de contaminants (Silva et al., 2011). Les températures de garde peuvent varier légèrement (y compris dans un même lot), les bouteilles positionnées auprès d'un courant d'air froid peuvent subir des variations de température différentes de celles positionnées au cœur du stock. Même avec une grande volonté d'optimisation des lieux de stockage, les bouteilles mises à vieillir peuvent emprunter des voies singulièrement différentes. Malheureusement, la littérature scientifique qui traite de l'effet des conditions de stockage sur le goût des vins naturellement vieillis est extrêmement pauvre. Pour cet ensemble de raisons, nous avons choisi et tenu à travailler en analyse sensorielle et chimique sur des échantillons uniques. Si un doublement des échantillons avait été proposé par les partenaires, nous les aurions traités comme des nouvelles références.

2.2 Solvants et consommables

Le dichlorométhane (pureté pour GC) a été fourni par VWR chemicals (Fontenay-sous-bois, France). L'éthanol (pureté ≥ 99,9 %), fourni par Merck (Darmstadt, Allemagne), et l'acétonitrile (pureté ≥ 99,9

%), fourni par VWR chemicals (Fontenay-sous-bois, France), ont été utilisés pour la préparation des solutions « mères » d'analytes. L'eau ultra pure (18,2 MΩ.cm^{-1}) utilisée pour la dilution des échantillons a été obtenue depuis un réservoir d'eau distillée (Prima system ; ELGA LabWater, Veolia Water STI, Anthony, France) et purifiée par un système USF Maxima (ELGA LabWater, Veolia Water STI, Anthony, France).

Le chlorure de sodium (pureté ≥ 99,9 %) utilisé pour les échantillons SPME, le sulfate de sodium anhydre (pureté ≥ 99 %) utilisé pour sécher les échantillons après extraction liquide-liquide et le carbonate de sodium (pureté ≥ 99,8 %) utilisé pour augmenter le pH des échantillons a été fourni par Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France).

Les microextractions sur phase solide (SPME) ont été réalisées à l'aide de fibres de différents polymères fournies par Supelco (Bellefonte, Palo Alto, USA). Toutes les fibres ont été utilisées après un conditionnement adapté à chaque phase et recommandé par le constructeur. Les extractions par SBSE ont été effectuées à l'aide de Twisters® (10 mm × 1 mm) revêtus de polydiméthylsiloxane (PDMS) fournis par Gerstel (Müllheim an der Ruhr, Allemagne). Avant utilisation, les Twisters® ont chacun été conditionnés deux fois à 300°C sous flux d'hélium N55 (Linde, France) pendant 15 minutes comme recommandé par le constructeur.

L'hélium N55 a été utilisé comme gaz vecteur pour la séparation chromatographique en GC-MS et présentait une pureté adaptée à l'utilisation en GC (Linde, France).

2.3 Méthodes de quantification par GC-MS

2.3.1 Défauts

Les principaux défauts des vins ont été quantifiés par la méthode développée par Franc et al. (2009).

2.3.1.1 Composés de référence

Les composés de référence utilisés pour la quantification des principaux défauts dans les vins sont présentés dans le **Tableau 14**.

Tableau 14. Composés de référence utilisés pour le dosage des défauts. *Indique les étalons internes

Composé chimique	Pureté	Fournisseur	Localité
2-Isobutyl-3-méthoxypyrazine (IBMP)	99 %	Sigma-Aldrich	Saint-Quentin Fallavier, France
2,4,6-trichloroanisole (TCA)	99 %	Sigma-Aldrich	Saint-Quentin Fallavier, France
2,4,6-tribromoanisole (TBA)	99 %	Sigma-Aldrich	Saint-Quentin Fallavier, France
2,3,5,6-tétrachloroanisole (TeCA)	98 %	Sigma-Aldrich	Saint-Quentin Fallavier, France
2,3,4,5,6-pentachloroanisole (PCA)	98,2 %	Chem Service	West-Chester, PA, USA
4-éthylphénol (EP)	≥ 98 %	Alfa Aesar	Bischheim, France
4-éthylguaïacol (EG)	98 %	Alfa Aesar	Bischheim, France
(±)-géosmine	100 µg/mL Méthanol	Sigma-Aldrich	Saint-Quentin Fallavier, France
[$^{2}H_3$]2-Isobutyl-3-méthoxypyrazine (IBMP-d3)*	99,9 %	CDN isotope	Pointe Claire Québec, Canada
[$^{2}H_5$]2,4,6-trichloroanisole (TCA-d5)*	99 %	CDN isotope	Pointe Claire Québec, Canada
[$^{2}H_5$]4-éthylguaiacol (EG-d5)*	-	CDN isotope	Pointe Claire Québec, Canada
(±)-[$_{2}H^{5}$]géosmine (Geo-d5)*	-	CDN isotope	Pointe Claire Québec, Canada

2.3.1.2 Extraction par SBSE

Vingt microlitres d'une solution d'étalons internes deutérés (IBMP-d3 à 112 µg/L, TCA-d5 à 55,5 µg/L, EG-d5 à 60 mg/L, Géo-d5 à 300 µg/L en solution hydroalcoolique à 50% v/v) ont été ajoutés à 10 mL d'échantillon de vin puis le pH de celui-ci a été ajusté à 10,0 ± 0,2 avec du carbonate de sodium anhydre. L'extraction des composés volatils a été effectuée à l'aide d'un Twister® (10 mm × 1 mm / PDMS L'agitation à 900 tr/min a duré 1 heure à température ambiante (20 ± 3°C). Les analyses ont été effectuées sur des échantillons non congelés après un prélèvement au CORAVIN™ avant chaque séance de dégustation. Les conditions d'extraction sont présentées dans le **Tableau 15**.

Tableau 15. Conditions d'extraction et d'analyse pour le dosage des défauts.

		Appareil : Agilent 6890 (Agilent technologies)
SBSE	*Sorption*	Twister (10 mm × 1 mm / PDMS 63 µL). Sorption à T° ambiante / 60 min / 900 tr/min.
	Désorption et injection	Désorption thermique dans un flux d'hélium (50 mL/min) dans le TDU en mode splitless (60°C/min de 30°C à 280°C maintenue pendant 10 min). Température de la ligne de transfert : 300°C. Cryofocalisation dans le CIS à -100°C (azote liquide). Injecteur PTV chauffé à 12°C/s de -100°C à 290°C maintenu pendant 5 min en mode splitless (1,5 min).
GC-MS	*Colonne chromatographique*	Colonne HP-5MS (Agilent Technologies), 30 m × 0,25 mm (d. i.) × 0,25 µm (e. f.)
	Programme de température	40°C à 120°C à 2°C/min puis 10°C/min jusqu'à 290°C maintenu pendant 9 min.
	Débit du gaz vecteur	Hélium à 1,3 mL/min
	Détection	Spectromètre de masse (5975) ; impact électronique (70 eV) ; température source 230°C ; mode acquisition SIM.

2.3.1.3 Analyse GC-MS

Une fois l'extraction terminée, chaque Twister® était retiré des échantillons, rapidement rincé avec de l'eau ultra pure, séché avec un papier absorbant puis placé dans un tube en verre pour l'analyse. Les composés sorbés sur le Twister® étaient alors extraits par la chaleur. Ensuite, les analytes ont été cryofocalisés par un flux d'azote puis injectés dans un système de GC/MS. Le chromatographe utilisé était un Agilent 6890 (Agilent Technologies, Massy, France) équipé d'un passeur d'échantillon automatique Gerstel MPS2, d'une unité de désorption thermique Twister® (TDU), d'un système d'injection de refroidissement (Gerstel CIS 4) et d'une entrée de température de vaporisation programmable (PTV) (Gerstel, Müllheim and der Ruhr, Allemagne). Ce dispositif était couplé à un détecteur de type spectromètre de masse Agilent 5975 (Agilent Technologies, Massy, France). Les conditions de séparation et de détection sont présentées dans le **Tableau 15**. La détection et la quantification des composés ont été réalisées en mode SIM. Pour l'ensemble des composés et l'ensemble des méthodes présentées dans ce paragraphe 2.3, la sélection des ions comprend des ions de

quantification et des ions de contrôle. Les ions utilisés ainsi que les paramètres de calibration sont présentés en annexe 3. Il n'y a pas eu de réplicats pour cette analyse.

2.3.2 Composés volatils issus du bois de chêne

Les composés volatils issus du bois de chêne ont été quantifiés par la méthode développée par Barbe et Bertrand (1996) et optimisée par Bloem (2005).

2.3.2.1 Composés de référence

Les composés de référence utilisés pour la quantification des composés volatils issus du bois de chêne sont présentés dans le **Tableau 16**.

Tableau 16. Composés de référence utilisés pour le dosage des composés volatils issus du bois de chêne. *Indique l'étalon interne

Composé chimique	Pureté	Fournisseur	Localité
Whisky-lactone (*cis* et *trans*)	≥ 98 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Eugénol	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Gaïacol	99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Vanilline	99 %	VWR chemicals	Fontenay-sous-Bois, France
Acétovanillone	≥ 98 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Synringaldéhyde	≥ 98 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Furfural	99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
5-méthylfurfural	99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Acétosynringone	≥ 99 %	Acros organics	Geel, Belgique
Syringol	≥ 98 %	Lancaster synthesis	Bischheim, France
1-dodécanol*	98 %	Alfa Aesar	Bischheim, France

2.3.2.2 Extraction liquide-liquide

Deux cents microlitres d'une solution de 1-dodécanol (45 mg/L en solution hydroalcoolique à 50% v/v) ont été ajoutés comme étalon interne à 50 mL de vin. Les composés odorants du bois de chêne ont été extrait successivement par 4, 2 et 2 mL de dichlorométhane dans un erlenmeyer de 100 mL bouché. Chaque extraction a duré 5 minutes sous agitation par barreau magnétique de 700 tr/min. Les phases organiques ont été recueillies, assemblées puis séchées au sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4). L'extrait

organique obtenu a ensuite été concentré sous flux d'azote jusqu'à un volume final de 250 µL approximativement. Les analyses ont été réalisées à partir d'échantillons décongelés. Les volumes de vin n'étaient pas suffisants pour réaliser des réplicats. Les conditions d'extraction sont détaillées dans le **Tableau 17**.

2.3.2.3 Analyse GC-MS

Le chromatographe utilisé pour cette analyse était un Agilent 7890 A (Agilent technologies Massy, France) équipé d'un passeur d'échantillon automatique Gerstel MPS2. Cet appareil était couplé à un spectromètre de masse Agilent 5975 C (Agilent technologies Massy, France). Les conditions de séparation et de détection sont présentées dans le **Tableau 17**. La détection des composés s'est faite en mode SIM. Les ions utilisés pour la détection ainsi que les paramètres de calibration sont présentés en annexe 4.

Tableau 17. Conditions d'extraction et d'analyse pour le dosage des composés volatils issus du bois de chêne.

Appareil : Agilent 7890 A (Agilent technologies)		
Extraction liquide-liquide		Extraction liquide-liquide au dichlorométhane (4 + 2 + 2 mL) puis concentration de l'extrait sous azote jusqu'à 250 µL.
	Injection	Volume injecté : 2 µL ; température injecteur : 250 °C ; injecteur en mode splitless (30 s)
GC-MS	*Colonne chromatographique*	BP20 (SGE), 60 m × 0,25 mm (d. i.) × 0,25 µm (e.f.)
	Programme de température	60°C pendant 1 min puis 4°C/min jusqu'à 220°C maintenu pendant 80 min.
	Débit du gaz vecteur	1 mL/ min
	Détection	Spectromètre de masse (5975 C) ; impact électronique (70 eV) ; température source : 180°C ; mode acquisition : SIM

2.3.3 Terpènes et C_{13}-norisoprénoïdes

Les composés terpéniques, les C_{13}-norisoprénoïdes (incluant la tabanone) et le salicylate de méthyle ont été quantifiés à l'aide de la méthode développée par Slaghenaufi et Ugliano (2018). Ces dosages ont été réalisés au Dipartimento di Biotecnologie de l'Università degli Studi di Verona (Italie) où j'ai eu l'occasion d'effectuer ce travail lors d'un séjour de deux semaines. Les composés de références utilisés ainsi que les ions de calibration utilisés pour la détection sont décrits par Slaghenaufi et Ugliano (2018).

Tableau 18. Conditions d'extraction et d'analyse pour le dosage des terpènes et des C_{13}-norisoprénoïdes.

Appareil : HP 7890 A (Agilent technologies)		
HS-SPME	*Adsorption*	Fibre pour SPME : DVB/CAR/PDMS d'épaisseur de film 50/30 µm Adsorption à 40°C pendant 60 minutes
	Désorption et injection	Température injecteur : 250°C ; désorption pendant 5 minutes en mode splitless
GC-MS	*Colonne chromatographique*	DB-WAX (Agilent Technologies, USA), 30 m × 0,25 mm (d. i.) × 0,25 µm (e. f.)
	Programme de température	40°C pendant 3 min puis 4°C/min jusqu'à 230°C maintenu pendant 20 min.
	Débit du gaz vecteur	Hélium à 1,2 mL/min
	Détection	Spectromètre de masse (5977 B) ; impact électronique (70 eV) ; température de source : 250°C ; mode acquisition : SIM.

2.3.3.1 Extraction HS-SPME

Un volume de 5 mL de vin a été introduit dans un vial pour SPME préalablement rempli de 3 g de NaCl. Un volume de 5 mL d'eau ultra pure (eau milli-Q à 18,2 MΩ.cm^{-}1) a été ensuite ajouté. L'échantillon a été supplémenté de 5 µL d'une solution d'étalon interne (octèn-2-ol à 420 mg/L dans l'éthanol). Le vial serti avec une capsule munie d'un septum en téflon double face puis homogénéisé pendant quelques secondes au vortex. Les conditions d'extraction par HS-SPME sont détaillées dans le **Tableau 18**. La détection des différents composés s'est faite en mode SIM.

2.3.3.2 Analyse GC-MS

Le chromatographe utilisé était un HP 7890 A (Agilent Technologies, USA) équipé d'un passeur d'échantillon automatique Gerstel MPS3 (Müllheim/Ruhr, Germany). Cet appareil était couplé à un spectromètre de masse de type quadrupole 5977 B (Agilent Technologies, USA) fonctionnant en impact électronique. Les conditions de séparation et de détection sont présentées dans le **Tableau 18**.

2.3.4 Composés à odeur « menthée » : développement d'une méthode de dosage par SPME-GC-MS/MS

Un travail en collaboration avec le Dr. Céline Franc (UR œnologie – ISVV – Université de Bordeaux) et le Dr. Maria Tiziana Lisanti (Université de Naples) a permis de développer une nouvelle méthode de dosage afin de pouvoir doser ces composés dans un volume raisonnable de vin. La méthode consiste en l'extraction des composés volatils par la technique d'HS-SPME-arrow puis en l'analyse de ces composés par GC-MS/MS. Un résumé du développement et de la validation de la méthode sera présenté dans la partie « résultats » (paragraphe 3.1.3.1, page 95). Cette méthode est opérationnelle depuis octobre 2018 et a donné lieu à une publication (Lisanti et al., 2021). Cette méthode a été utilisée pour le dosage des composés « menthés » dans les vins de l'étude. Les conditions d'extraction et chromatographiques sont décrites ci-dessous.

Tableau 19. Composés de référence utilisés pour le dosage du limonène et des composés à odeur "menthée". *Indique l'étalon interne

Composés chimiques	Pureté	Fournisseur	Localité
(*S*)-(−)-limonène	96 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
1,8-cinéole	99 %	Sigma-Aldrich, SAFC	St-Quentin Fallavier, France
Pipéritone (mélange 6*R* et 6*S*)	92 %	Chemos	Regenstauf, Allemagne
(1*R*,4*S*)-(−)-menthone	90 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
(*S*)-(+)-carvone	96 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
(*R*)-(+)-pulégone	98 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
(1*R*)-(−)-menthylacétate	98 %	Sigma-Aldrich, SAFC	St-Quentin Fallavier, France
(1*S*)-(+)-néomenthylacétate	> 99%	Santa Cruz Biotechnology	Heidelberg, Allemagne
Mintlactone (mélange de deux diastéréoisomères 95:5)	99 %	Sigma-Aldrich, SAFC	St-Quentin Fallavier, France
(*R*)-(+)-camphre*	≥ 98 %	Merck	Fontenay-sous-Bois, France

2.3.4.1 Composés de référence

Les composés de références utilisés pour la quantification des composés à odeur « menthée » sont présentés dans le **Tableau 19**.

2.3.4.2 Extraction par HS-SPME-arrow

Plusieurs optimisations (choix de la fibre, choix de la quantité de sel, dilution de l'échantillon, temps et température d'extraction par exemple) ont été effectuées. Les paramètres d'extraction choisis sont présentés ci-après. Un échantillon de 5 mL de vin est introduit dans un vial pour SPME et est supplémenté de 4 g de NaCl et de 5 mL d'eau ultrapure. Une fois le mélange eau/vin équilibré, 5 µL d'une solution de camphre à 10,6 mg/L dans 100% d'acétonitrile sont ajoutés en tant qu'étalon interne. Le flacon SPME a été serti avec une capsule munie d'un septum en téflon double face puis homogénéisé pendant quelques secondes au vortex. Les conditions d'extraction HS-SPME-arrow sont présentées dans le **Tableau 20**. Les analyses ont été réalisées en triplicats sur échantillons décongelés.

Tableau 20. Conditions d'extraction et d'analyse pour le dosage des composés à odeur "menthée".

Appareil : TRACE 1310 & TSQ 8000 Evo (Thermo Fischer Scientific)		
HS-SPME	*Adsorption*	Fibre pour SPME arrow : PDMS-DVB d'épaisseur de film 120 µm (Thermo-Fischer) Adsorption à 50°C pendant 60 minutes avec une vitesse d'agitation de 500 tr/min
	Désorption et injection	Température injecteur : 280°C ; désorption pendant 2 minutes en mode splitless (180 s). Fibre conditionnée pré-injection à 280°C pendant 10 min puis rincée après chaque injection pendant 2 min dans de l'éthanol et séchée pendant 10 min à 280°C.
GC-MS	*Colonne chromatographique*	HP-5MS (Agilent Technologies), 30 m × 0,25 mm (d. i.) × 0,25 µm (e. f.)
	Programme de température	40°C pendant 2 min puis 2°C/min jusqu'à 140°C puis 10°C/min jusqu'à 250°C maintenu pendant 20 minutes.
	Débit du gaz vecteur	Hélium à 50 mL/min
	Détection	Spectromètre de masse TSQ (8000 evo, Thermo-Fischer) ; impact électronique (30 eV), argon à 4,8 bars utilisé pour la collision ; température source : 230°C ; mode acquisition : SRM.

2.3.4.3 Analyse GC-MS/MS

Le chromatographe utilisé était un TRACE 1310 équipé d'un échantillonneur automatique TriPlus RSH (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Cet appareil était couplé à un spectromètre de masse triple quadrupole MS-MS TSQ 8000 Evo (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) fonctionnant en impact électronique. Les conditions de séparation et de détection sont présentées dans le **Tableau 20**. Les composés ont été détectés en mode SRM.

2.3.5 Esters

La méthode utilisée pour quantifier les 32 esters dans les vins est celle développée par Antalick et al. (2010).

2.3.5.1 Composés de référence

Les composés de références utilisés pour la quantification des esters sont présentés au **Tableau 21**.

2.3.5.2 Extraction par HS-SPME

Dix millilitres de vin ont été introduits dans un vial pour SPME préalablement rempli avec 3,5 g de NaCl. Le vin a été additionné de 10 µL d'un mélange d'étalons internes deutérés (4,4,4-butanoate d'éthyle-d3 à 178 mg/L, hexanoate d'éthyle-d11 à 209 mg/L, octanoate d'éthyle-d15 à 223 mg/L et *trans*-cinnamate d'éthyle-d5 à 325 mg/L dans l'éthanol). Le flacon pour SPME a été serti avec une capsule munie d'un septum en téflon double face puis homogénéisé pendant quelques secondes au vortex. Les conditions d'extraction par HS-SPME sont détaillées dans le **Tableau 22**. Les analyses ont été réalisées en triplicats sur échantillons décongelés.

2.3.5.3 Analyse GC-MS

Le chromatographe utilisé était un Agilent 6890N (Agilent technologies, Massy, France) équipé d'un passeur d'échantillon automatique Gerstel MPS2. Cet appareil était couplé à un spectromètre de masse 5975C (Agilent technologies, Massy, France) fonctionnant un impact électronique. Les conditions de séparation et de détection sont présentées dans le **Tableau 22**. La détection des différents esters s'est faite en mode SIM. Les ions utilisés ainsi que les paramètres de calibration sont détaillés en annexe 5.

Tableau 21. Composés de référence utilisés pour le dosage des 32 esters. *Indique les étalons internes

Composé chimiques	Pureté	Fournisseur	Localité
Propanoate d'éthyle (C_3C_2)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
2-méthylpropanoate d'éthyle (iC_4C_2)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Acétate de propyle (C_2C_3)	≥ 99,7 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Butanoate de méthyle (C_4C_1)	≥ 98 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Acétate de 2-méthylpropyle (C_2iC_4)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Butanoate d'éthyle (C_4C_2)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
2-méthylbutanoate d'éthyle ($2\text{-}meC_4C_2$)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
3-méthylbutanoate d'éthyle (iC_5C_2)	≥ 98 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Acétate de butyle (C_2C_4)	≥ 98,5 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Acétate d'isoamyle (C_2iC_5)	≥ 98 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Pentanoate d'éthyle (C_5C_2)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Hexanoate de méthyle (C_6C_1)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Hexanoate d'éthyle (C_6C_2)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Butanoate de 3-méthylbutyle (C_4iC_5)	≥ 98 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Acétate d'hexyle (C_2C_6)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Heptanoate d'éthyle (C_7C_2)	≥ 98 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
trans-2-hexanoate d'éthyle ($HexC_2$)	≥ 98 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Hexanoate d'isobutyle (C_6iC_4)	≥ 98 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Octanoate de méthyle (C_8C_1)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Octanoate d'éthyle (C_8C_2)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Hexanoate de 3-méthylbutyle (C_6iC_5)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Acétate d'octyle (C_2C_8)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Nonanoate d'éthyle (C_9C_2)	≥ 98 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Décanoate de méthyle ($C_{10}C_1$)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Décanoate d'éthyle ($C_{10}C_2$)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Octanoate de 3-méthylbutyle (C_8iC_5)	≥ 98 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
trans-géranate de méthyle ($GerC_1$)	≥ 94 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Phénylacétate d'éthyle (PhC_2C_2)	≥ 67 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Acétate de 2-phényléthyle (C_2PhC_2)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Dodécanoate d'éthyle ($C_{12}C_2$)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Dihydrocinnamate d'éthyle ($dhCinC_2$)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Cinnamate d'éthyle ($CinC_2$)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Leucate d'éthyle ($LeuC_2$)	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
4,4,4-butanoate d'éthyle-d3*	≥ 99 %	Cluzeau	Sainte-Foy-la-Grande
Hexanoate d'éthyle-d11*	≥ 99 %	Cluzeau	Sainte-Foy-la-Grande
Octanoate d'éthyle-d15*	≥ 99 %	Cluzeau	Sainte-Foy-la-Grande
trans-cinnamate d'éthyle-d5*	≥ 99 %	Cluzeau	Sainte-Foy-la-Grande

Tableau 22. Conditions d'extraction et d'analyse pour le dosage de 32 esters.

		Appareil : Agilent 6890 N (Agilent technologies)
HS-SPME	*Adsorption*	Fibre pour SPME : PDMS (rouge) d'épaisseur de film 100 µm et de longueur 1 cm Adsorption à 40°C pendant 30 minutes avec une vitesse d'agitation de 500 tr/min
	Désorption et injection	Température injecteur : 250°C ; désorption pendant 15 minutes en mode split/splitless (45s)
GC-MS	*Colonne chromatographique*	BP21 (SGE), 30 m × 0,32 mm (d. i.) × 0,25 µm (e. f.)
	Programme de température	40°C pendant 5 min puis 5°C/min jusqu'à 220°C maintenu pendant 30 min.
	Débit du gaz vecteur	Hélium à 1,2 mL/min
	Détection	Spectromètre de masse (5975 C) ; impact électronique (70 eV) ; température source : 280°C ; mode acquisition : SIM

2.3.6 Cyclotène et isophorone

Ces deux composés ont été quantifiés selon la méthode adaptée de celle proposée par Vandecan et al. (2010) et transférée au laboratoire par Le Menn (2018).

2.3.6.1 Composés de référence

Les composés de référence utilisés pour cette méthode sont présentés dans le **Tableau 23**.

Tableau 23. Composés de référence utilisés pour les dosages du cyclotène et de l'isophorone. *Indique l'étalon interne

Composé chimique	**Pureté**	**Fournisseur**	**Localité**
Cyclotène	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
α-isophorone	≥ 97 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
4-éthylphénol-d10*	99 %	CDN isotope	Pointe Claire Québec, Canada

2.3.6.2 Extraction par HS-SPME

Dans un vial SPME de 20 mL préalablement rempli avec 3 g de chlorure de sodium (NaCl), 10 mL de vin ont été introduits. Le vin a été supplémenté avec 10 µL d'étalon interne (4-éthylphénol-d10 à 56 mg/L dans une solution hydroalcoolique de 50% v/v). Avant extraction, le vial a été serti avec une capsule métallique, fermée par un septum en silicone et téflon à double face. Une homogénéisation de l'échantillon quelques secondes au vortex a été effectuée. Les conditions d'extraction par HS-SPME sont présentées dans le **Tableau 24**. Les analyses ont été réalisées en triplicats sur échantillons décongelés.

Tableau 24. Conditions d'extraction et d'analyse pour le dosage du cyclotène et de l'isophorone.

		Appareil : Agilent 6890 (Agilent technologies)
HS-SPME	*Adsorption*	Fibre pour SPME : PEG (violette) d'épaisseur de film 60 µm Incubation 5 min Adsorption à 35°C pendant 30 minutes avec une vitesse d'agitation de 250 tr/min intermittente de 10 s
	Désorption et injection	Température injecteur : 230°C ; désorption pendant 60 s en mode splitless
GC-MS	*Colonne chromatographique*	BP21 (SGE), 30 m × 0,32 mm (d. i.) × 0,25 µm (e. f.)
	Programme de température	37°C pendant 2 min puis 3°C/min jusqu'à 165°C puis 10°C/min de 165°C jusqu'à 230°C maintenu pendant 20 min.
	Débit du gaz vecteur	Hélium à 1 mL/min
	Détection	Spectromètre de masse (5973) ; impact électronique (70 eV) ; température de la source : 280°C ; mode acquisition : SIM

2.3.6.3 Analyse GC-MS

Le chromatographe utilisé pour l'analyse est un Agilent 6890 (Agilent technologies, Massy, France) équipé d'un passeur d'échantillon automatique Gerstel MPS2. Cet appareil était couplé à un spectromètre de masse 5973 (Agilent technologies, Massy, France) fonctionnant en impact électronique. Les conditions de séparation et de détection sont présentées dans le **Tableau 24**. La détection du

cyclotène et de l'isophorone s'est faite en mode SIM. Les ions utilisés ainsi que les paramètres de calibration sont détaillés en annexe 6.

2.3.7 Sulfure de diméthyle (DMS)

Le protocole utilisé est adapté de celui proposé par Fedrizzi et al. (2007).

2.3.7.1 Composés de référence

Les composés de références utilisés pour cette méthode sont présentés dans le **Tableau 25**.

Tableau 25. Composés de référence utilisés pour le dosage du sulfure de diméthyle. *Indique l'étalon interne

Composé chimique	Pureté	Fournisseur	Localité
DMS	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France
Thiophène*	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	St-Quentin Fallavier, France

2.3.7.2 Extraction par HS-SPME

Dix millilitres de vin ont été introduits dans un flacon SPME préalablement rempli avec 3 g de chlorure de sodium (NaCl). Un volume de 10 µL d'étalon interne (solution de thiophène à 318 mg/L en solution hydroalcoolique à 50% v/v) a été ajouté dans l'échantillon. Le flacon SPME a été serti avec une capsule munie d'un septum en téflon double face puis homogénéisé pendant quelques secondes au vortex. Les conditions d'extraction par HS-SPME sont détaillées dans le **Tableau 26**. Les analyses ont été réalisées sur échantillons issus d'un prélèvement à l'aide du système CORAVIN™ avant ouverture de la bouteille et non congelés. Des duplicats ont été analysés avant les séances de dégustation des vins.

2.3.7.3 Analyse par GC-MS

Le chromatographe utilisé était un Agilent 7890 A (Agilent technologies, Massy, France) équipé d'un passeur d'échantillon automatique Gerstel MPS2. Cet appareil était couplé à un spectromètre de masse Agilent 5975 C (Agilent technologies, Massy, France) fonctionnant en impact électronique. Les conditions de séparation et de détection sont présentées dans le **Tableau 26**. La détection du DMS s'est faite en mode SIM. Les ions utilisés pour la détection ainsi que les paramètres de calibration sont présentés en annexe 7.

Tableau 26. Conditions d'extraction et d'analyse pour le dosage du sulfure de diméthyle.

		Appareil : Agilent 7890 A (Agilent technologies)
HS-SPME	*Adsorption*	Fibre pour SPME : DVB/CAR/PDMS (grise) d'épaisseur de film 30 µm et de longueur 2 cm Adsorption à 35°C pendant 30 minutes avec une vitesse d'agitation de 500 tr/min
	Désorption et injection	Température injecteur : 250°C ; désorption pendant 60 s en mode splitless
GC-MS	*Colonne chromatographique*	BP21 (SGE), 30 m × 0,32 mm (d. i.) × 0,25 µm (e. f.)
	Programme de température	32°C pendant 1 min puis 1°C/min jusqu'à 40°C maintenu 1 min puis 10°C/min jusqu'à 220°C maintenu pendant 15 min.
	Débit du gaz vecteur	Hélium à 1 mL/min
	Détection	Spectromètre de masse (5975 C) ; impact électronique (70 eV) ; Température de la source : 280°C ; mode acquisition : SIM

2.4 Analyses statistiques

Les données chiffrées issues de la quantification des composés volatils dans les vins ont été soumises à plusieurs traitements. Le logiciel XLSTAT 2019 (Addinsoft, Paris, France) a été utilisé pour l'ensemble de ces traitements. Premièrement, les observations des données brutes par des graphiques de type « nuage de points » ou des « stattergrams » ont été réalisés pour chaque molécules dosées pour chaque série de vin (verticales). Ce point de départ est essentiel pour observer la dispersion des données et détecter les points atypiques. Ensuite, plusieurs analyses statistiques ont été choisies en fonction de nos objectifs :

- l'analyse en composantes principales a été effectuée pour réaliser une approche graphique d'un lien entre des variables (teneurs en molécules) qui pourrait expliquer la typologie d'une zone de production ;
- le test de corrélation (le test de Spearman a été privilégié car les données ne suivent pas une distribution normale) a été réalisé afin de repérer des corrélations de type linéaires et non linaires entre plusieurs variables (âge, typicité par exemple) ;
- la régression PLS a permis d'évaluer la contribution de divers composés volatils à la typicité du bouquet de vieillissement. Cette analyse permet de combiner à la fois l'analyse descriptive (réduction de dimension) et la modélisation (régression) afin de prédire un ensemble de variables dépendantes

(dans notre cas, Y=les notes de typicité et/ou descripteurs et/ou âge des vins) par un nombre important de variables indépendantes (dans notre cas, X= les concentrations des composés volatils dosés) ;
- la classification ascendante hiérarchique a permis d'étudier s'il existait des groupes de vin qui pouvaient avoir la même typologie ;
- la comparaison de variance (type ANOVA) qui permet de justifier les observations repérées sur une ACP et de déterminer s'il existe des différences significatives entre deux variables, la comparaison par paires de type Tukey a été utilisée ;
- l'équivalent non-paramétrique Kruskall-Wallis de l'ANOVA a été mis en œuvre au besoin, la comparaison de type Steel-Dwass-Critchlow-Fligner a été alors effectuée ;
- l'analyse factorielle discriminante (AFD) qui a permis de réaliser une discrimination des crus à l'aide des composés volatils. Cette technique permet de tester si les variables descriptives (ici les crus) sont capables d'être distinguées par le biais des variables quantitatives (teneurs en composés volatils). De plus, une représentation des données dans l'espace factoriel permet de vérifier visuellement si les variables descriptives sont bien discriminées.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Données quantitatives

Les différents composés odorants ont été quantifiés dans les 80 vins rouges de l'étude. Les résultats obtenus pour chaque famille de molécules sont présentés dans les prochaines sous-parties sous forme de graphiques permettant de visualiser la dispersion des valeurs. Les résultats sont représentés pour chaque cru, afin de se rendre compte de la composition chimique de chacun indépendamment. Les résultats détaillés par millésimes au sein d'un cru sont décrits aux annexes 8.
Les annexes 8 ne sont pas autorisées à la diffusion. Par conséquent, elles ont été supprimées pour cette version de diffusion.

3.1.1 Teneurs en composés odorants issus du bois de chêne

Les teneurs obtenues par crus pour les composés odorants issus du bois de chêne sont présentés sur la **Figure 9**. Chaque point représente la concentration d'un composé pour un échantillon, les croix rouges, les moyennes de chaque série (dosages du composé pour un cru) et les traits rouges, les médianes associées à la série.

[…] – Diffusion non autorisée.

D'une manière générale, les teneurs en composés volatils issus du bois de chêne quantifiés sont en accord avec les celles mesurées dans plusieurs vins rouges élevés sous bois de chêne (Culleré et al., 2004; Ortega-Heras et al., 2007; Cadahía et al., 2009). Si l'on compare aux teneurs mesurées dans les vieux vins rouges de Bordeaux étudiés par Picard (2015), les concentrations quantifiées dans notre échantillonnage sont dans le même ordre de grandeur mais souvent plus élevées. On remarque surtout que les vins de notre étude détiennent des teneurs 5 à 10 fois plus élevées pour la *trans*-whiskylactone et la *cis*-whiskylactone et que l'isomère *cis* est bien deux fois plus abondant que l'isomère *trans*. Cela est en accord avec les observations de plusieurs auteurs (Pollnitz et al., 1999; Díaz-Plaza et al., 2002; Waterhouse et al., 2016). D'autre part, les concentrations des composés volatils issus du bois de chêne dépassent, en général, leurs seuils de détection olfactifs respectifs (Boidron et al., 1988; Spillman et al., 2004) mise à part pour le furfural et le 5-méthylfurfural pout lesquels il déjà été décrit qu'ils participaient de manière indirecte à l'arôme « boisé » des vins (Prida and Chatonnet, 2010).
Dans ce cas, dans la limite de la représentativité des seuils de perception et dans l'hypothèse de l'absence d'autres interactions perceptives, ces composés issus du bois de chêne pourraient avoir des influences directes sur l'arôme des vins. Cet apport de notes « boisées » n'est pas négligeable, ce qui indique qu'il s'agit d'une notion à considérer lors de l'évaluation sensorielle de ces vins. À la lumière de ces valeurs, ainsi que des conclusions proposées par Picard (2015), le caractère boisé pourrait constituer une note nécessaire mais pas suffisante à l'évaluation de cette typicité pour les vins rouges de Bordeaux. D'ailleurs, ce caractère boisé fait partie intégrante de l'identité des vins rouges de Bordeaux de tous âges (Chatonnet, 2002).

La dispersion des points sur la **Figure 9**, indique que pour un même composé, les teneurs mesurées pour un cru peuvent être différentes de celles mesurées pour un autre cru (cas de l'eugénol) ou bien, au contraire, semblables et millésime dépendantes (cas de la vanilline ou du gaïacol et non visible sur la **Figure 9**). De plus, les différences de teneurs observées peuvent être causées par une grande variabilité entre les millésimes (cas du furfural pour le cru n°1). Nous avons vérifié qu'il n'existe pas de lien entre l'âge des vins et les teneurs en ces composés. Ce résultat est attendu car le fait d'avoir des vins âgés de 11 à 28 ans, explique que la dynamique des composés issus du bois de chêne a déjà eu lieu.
Le choix des paramètres de boisage est avant tout un choix technique spécifique à chaque domaine viticole. Dans ce cas, nous souhaitons savoir s'il existe une typologie de cru constante au travers du temps qui serait liée seulement au boisage. Nous nous devons d'explorer cette hypothèse afin de nous assurer que les différences possibles entre crus ne sont en aucun cas liées à ce paramètre facilement copiable et modifiable. Un essai d'identification d'une typologie de boisage propre à chaque cru sera présenté dans le paragraphe 3.4 (Chapitre 3 – paragraphe 3.4 page 113).

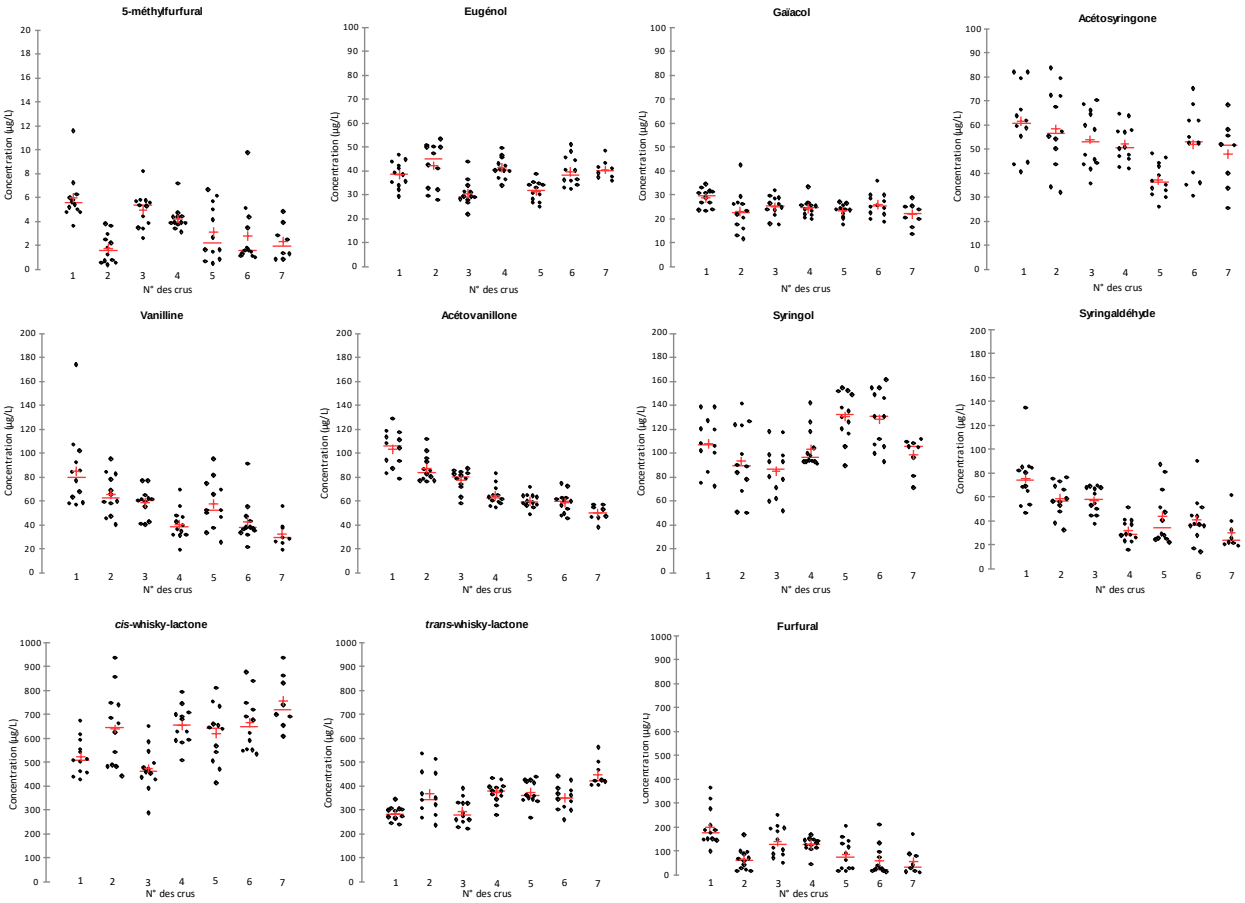


Figure 9. Dispersion des teneurs (en µg/L) des composés volatils issus du bois de chêne quantifiés dans les vins de chaque cru.

3.1.2 Teneurs en terpènes et C_{13}-norisoprénoïdes

La méthode de quantification des terpènes développée par Slaghenaufi et Ugliano (2018), nous a permis de déterminer, dans les vins de l'étude, les teneurs de différentes molécules comme le salicylate de méthyle ou des molécules appartenant à des familles terpéniques diverses (alcools et oxydes monoterpéniques, monoterpènes cycliques et terpinènes, sesquiterpènes linéaires et cycliques) et à la famille des C_{13}-norisoprénoïdes. Les teneurs moyennes en terpènes et en C_{13}-norisoprénoïdes dans les vins étudiés sont présentés sur les **Figure 10** et **Figure 11**. Le détail des quantifications est répertorié en annexes 8.2 et 8.3.

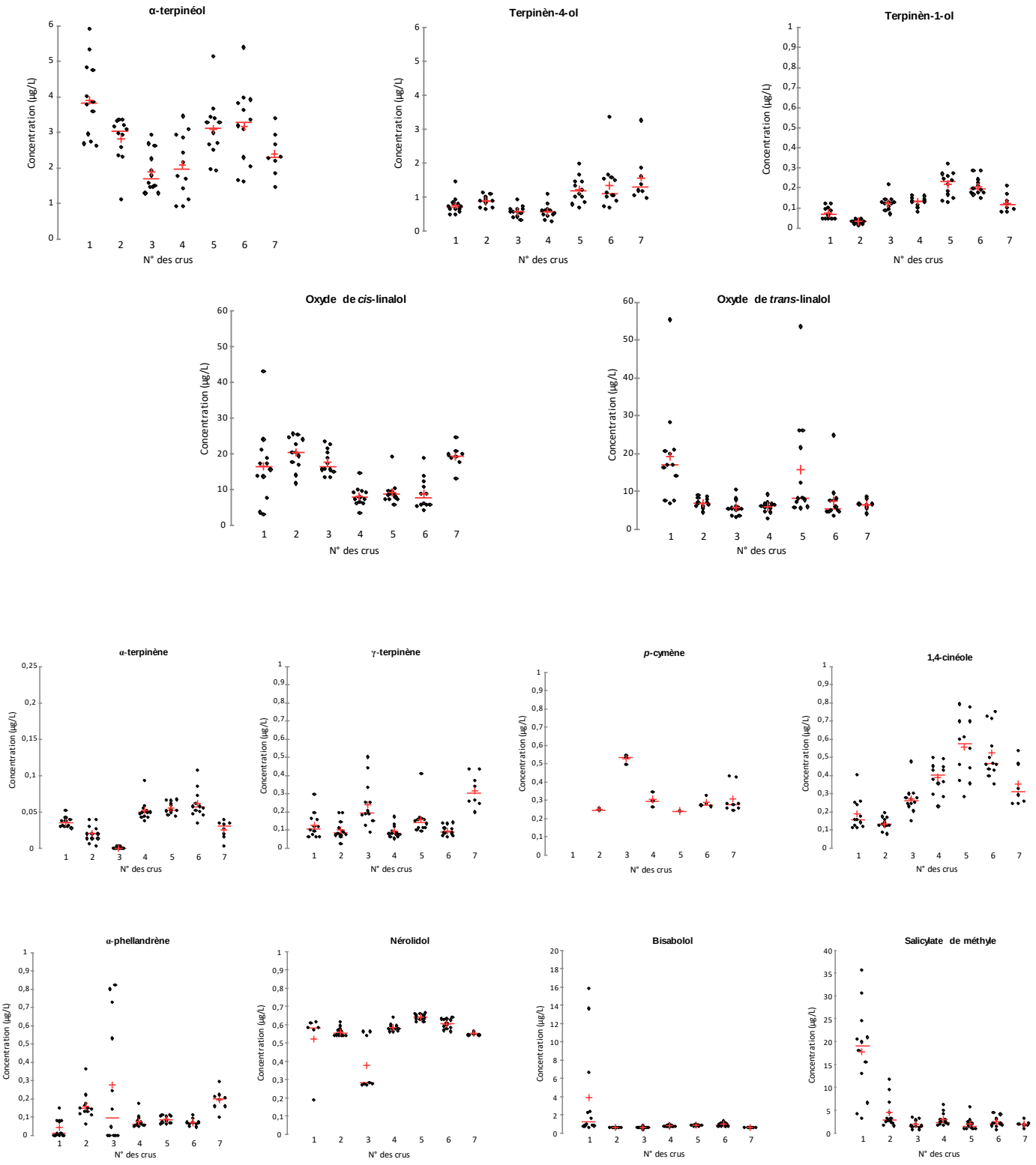


Figure 10. Dispersion des teneurs (en µg/L) des composés terpéniques et du salicylate de méthyle quantifiés dans les vins de chaque cru.

3.1.2.1 Les terpènes

Les composés terpéniques sont connus pour être issus du raisin ou bien de précurseurs présents dans le raisin. Ils sont donc éminemment liés au terroir et/ou aux pratiques culturales (Chapitre 1, paragraphe 2.4.3, page 39). Les études dans la littérature scientifique portent essentiellement sur les vins jeunes.
Dans notre étude, les teneurs mesurées sont de l'ordre du µg/L et peuvent atteindre la cinquantaine de µg/L dans certains crus et millésimes pour l'oxyde de linalol. La plupart des composés ont été détectés au-dessus des seuils de quantification de la méthode. Les teneurs sont cohérentes avec celles précédemment reportées dans des vins rouges issus de différentes régions (Tamborra and Esti, 2010; Antalick et al., 2015; Slaghenaufi et al., 2019). En revanche, le linalol, géraniol, nérol, β-citronellol, terpinolène, *p*-cyménène, farnésol n'ont pas été détectés dans les vins étudiés et cela est en accord avec les travaux publiés qui démontrent que leurs teneurs ont tendance à diminuer au cours du temps de vieillissement. Ils sont impliqués dans ces mécanismes d'oxydation pour former d'autres terpènes (Slaghenaufi et Ugliano, 2018). Nos résultats concernant l'α-terpinéol, le terpinèn-4-ol, le 1,4-cinéole, l'α-terpinène et le γ-terpinène sont également similaires à ceux obtenus dans les vieux vins rouges de Bordeaux (Picard, 2015). Pour ces composés, les concentrations obtenues sont inférieures ou proches de leur seuil de détection olfactif, ce qui implique (en considérant les limites sur l'utilisation de ces seuils exposées au chapitre précédent), que ces composés pourraient participer à l'arôme du bouquet de vieillissement seulement au travers d'interactions perceptives. Or, la participation de ces composés à l'arôme des vins et des eaux-de-vie par effet synergique a été proposé par plusieurs auteurs (Ribéreau-Gayon et al., 1975; Thibaud et al., 2020). Cette voie mériterait d'être approfondie dans le cadre des travaux sur le bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux ou dans le cadre d'autres travaux sur les vins.

D'autre part, on remarque que malgré le vieillissement des vins, quelques alcools monoterpéniques tels que l'α-terpinéol ou les terpinènols sont détectés. Il existe quelques valeurs atypiques et élevées concernant le terpinèn-4-ol qui sont détectés dans les millésimes 2007 des crus 6 et 7 (**Figure 10**). Il s'agirait d'une particularité de ce millésime. De manière générale, les composés de cette première famille monoterpénique semblent être soumis à des variations multiparamétriques (millésimes, rives et crus).
Si l'on considère les oxydes monoterpéniques comme une seconde famille, on observe des teneurs plus élevées. Cette observation s'accorde avec l'augmentation de ce composé au cours du vieillissement des vins observée par Slaghenaufi et Ugliano (2018), ainsi que par les mécanismes oxydatifs opérants au cours du vieillissement. Les teneurs en oxyde de *cis*-linalol ont tendance à être très influencées par les âges.
Concernant les 8 derniers composés présentés à la **Figure 10** (dont les terpinènes et sesquiterpènes), il semblerait exister des différences de concentrations entre les crus qui prendraient le dessus sur les

variations du millésime, puisque la dispersion des points dans les verticales est moins étendue que pour les 5 premiers composés présentés. Cependant, le 1,4-cinéole contenu dans les vins des crus 4, 5, 6 et 7 déroge à cette observation. Une dispersion des concentrations est observée, synonyme d'un effet millésime marqué ou bien de conditions de vieillissement dans ces vins propices à sa formation. Mais, les moyennes et les écarts-types respectifs de ces crus (N°4 : 0,4 ± 0,1 ; N°5 : 0,6 ± 0,2 ; N°6 : 0,5 ± 0,2 ; N°7 : 0,4 ± 0,1) n'induisent pas de discrimination significative entre eux.
D'autre part, l'α-phellandrène aurait une importance particulière dans les vins du cru n°3 tout comme le salycilate de méthyle dans les vins du cru n°1.

3.1.2.2 Les C_{13}-norisoprénoïdes et la tabanone

Les teneurs des composés de la famille des C_{13}-norisoprénoïdes sont également de l'ordre de la dizaine de µg/L (**Figure 11**). Les teneurs quantifiées dans les vins rouges sont en accord avec, d'une part, les concentrations en C_{13}-norisoprénoïdes déterminées dans des vins rouges italiens, espagnols et portugais (Janusz et al., 2003; Silva Ferreira et al., 2003; Loscos et al., 2010; Slaghenaufi and Ugliano, 2018) et, d'autre part, les concentrations mesurées dans une série de 24 vieux vins rouges de Bordeaux (Picard, 2015). Tout comme les terpènes, les concentrations de ces composés retrouvées dans les vins de l'étude sont en général inférieures ou proches des seuils de détection olfactifs du composé correspondant. Néanmoins, des auteurs ont montré l'implication de certains de ces composés, à des concentrations subliminaires, dans des effets perceptifs contribuant de manière indirecte à l'arôme des vins (Pineau et al., 2007).
Il semblerait également que, le millésime et les origines de cru aient des conséquences sur les teneurs de ces composés. De nombreuses variations de concentrations sont visibles au sein des crus pour la β-damascénone, le TPB ou le TDN. Le vitispirane aurait tendance également à bien être spécifique à un ou plusieurs crus et peut s'avérer intéressant pour son côté « marqueur de vieillissement » comme c'est le cas dans les vins de Porto (Silva Ferreira et al., 2003). Concernant les tabanones, ces composés sont aussi connus pour être de bons marqueurs de vieillissement des vins et peuvent contribuer de manière indirecte à la note « boîte à cigare » « épices » des vieux vins (Slaghenaufi et al., 2014). Dans nos vins, il existe une accumulation des tabanones pour la plupart avec des pentes variables en fonction des crus (pente de la somme des tabanones : 2,0 pour le n°1, 0,3 pour le n°3, 1,1 pour le n°4, 0,2 pour le n°6 en µg/an). En revanche, pour les crus 2, 5 et 7, les concentrations des tabanones restent stables sur la tranche d'âge étudiée. L'accumulation de ces composés dans les vins s'est probablement passée au cours des 10 premières années de vieillissement pour ensuite, se stabiliser pendant les 20 années suivantes.
Du fait de leur origine partiellement variétale et leur révélation au vieillissement pour certaines molécules, ces composés peuvent s'avérer intéressants pour caractériser une typologie de cru. Une analyse statistique adaptée à cette question sera présentée dans le paragraphe 3.5 (Chapitre 3 – paragraphe 3.5 page 115).

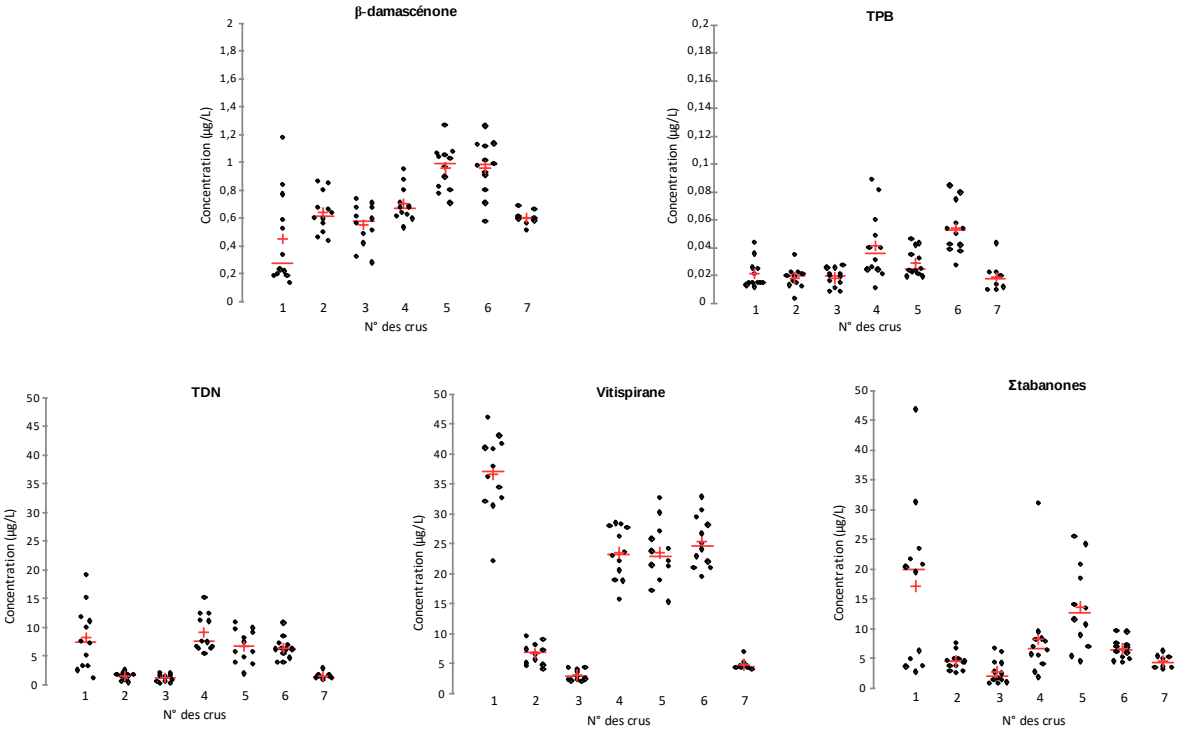


Figure 11. Dispersion des teneurs (en µg/L) des C_{13}-norisoprénoïdes quantifiés dans les vins de chaque cru.

3.1.3 Les composés à odeur « menthée »

3.1.3.1 Développement d'une méthode de dosage

Les molécules à odeur « menthée » dans les vins font partis de différentes familles chimiques dont la plupart sont assimilés à des terpènes mais il existe aussi des esters et des lactones. Les composés qui ont été ciblés pour le développement de la méthode sont ceux présentés sur la **Figure 12**. L'attention portée à ces composés pour leur contribution au bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux est récente (Picard, 2015). Le développement d'une première méthode de dosage utilisant deux techniques d'extraction successives (SPE et SBSE) puis l'analyse par GC-MS en mode SIM a permis de mettre en évidence le fait que ces composés étaient présents à des concentrations de l'ordre du ng/L dans les vins (Picard et al., 2018). En revanche, même si cette méthode était fonctionnelle et permettait de quantifier les molécules à odeur « menthée » dans les vins, elle était très consommatrice de temps de manipulation et de volume d'échantillon (100 mL pour une analyse). De ce fait, un travail en collaboration avec le Dr. Céline Franc (UR œnologie – ISVV - Université de Bordeaux) et le Dr. Maria Tiziana Lisanti (Université de Naples, Italie) a permis de développer une nouvelle méthode afin de pouvoir doser ces

composés dans un volume raisonnable de vin. Ce travail a donné lieu à une publication scientifique (Lisanti et al., 2021) qui est présentée à la fin du manuscrit (page 350) ainsi qu'à une communication orale et affichée lors du congrès OenoIvas2019. Les illustrations présentées dans ce manuscrit en sont issues et sont donc présentées en langue anglaise. L'acquisition d'un nouvel appareillage de GC-MS/MS (Thermo Fisher) a permis d'effectuer le travail d'optimisation des conditions d'extraction et de détection. La méthode consiste en l'extraction des composés volatils par la technique d'HS-SPME-arrow puis en l'analyse de ces composés par GC-MS/MS.

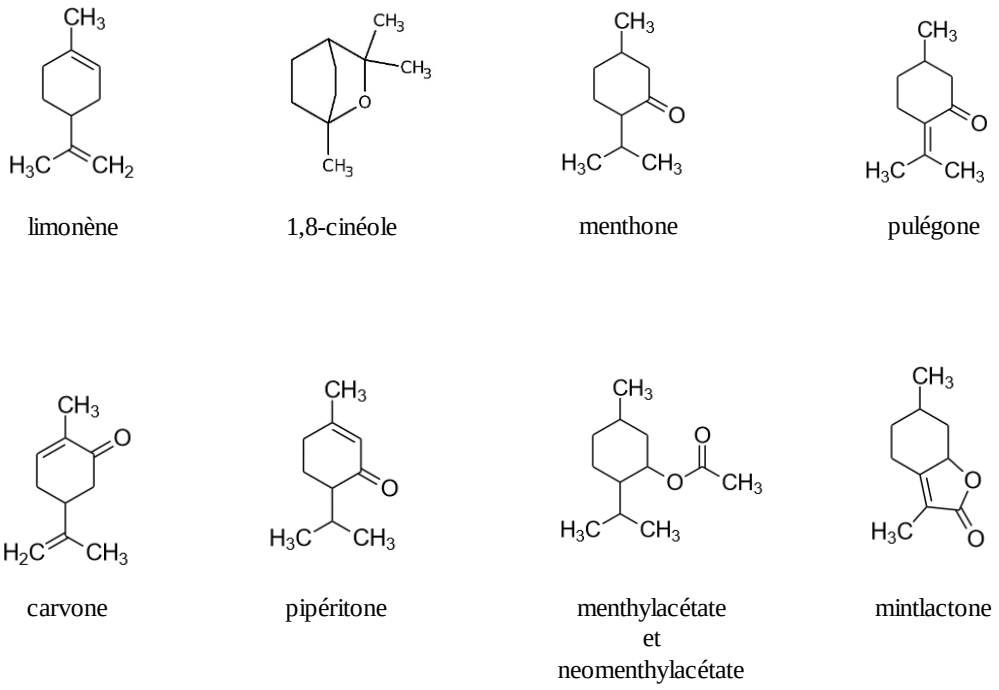


Figure 12. Structures chimiques du limonène et des molécules à odeur « menthée » étudiées lors du développement de la méthode SPME arrow-GC-MS/MS.

Le développement de la méthode a d'abord été confronté à de nombreuses optimisations. Dans un premier temps, l'optimisation de la partie détection a été entreprise. Pour cela, les paramètres de MS-MS, l'énergie d'ionisation, les transitions et les énergies de collision ont été optimisées. C'est finalement l'énergie d'ionisation de 30 eV qui permettait d'obtenir les meilleures réponses des analytes. Les paramètres choisis pour la SRM (transitions et énergie de collision) sont présentés dans le **Tableau 27**. Dans un second temps, les paramètres de la séparation (choix de la colonne et température du four) qui correspondent à la section GC ont été optimisés. Ensuite, la troisième partie de l'optimisation, s'est fait sur la partie extraction de l'échantillon.

Tableau 27. Chemical-physical properties, retention time (RT), SRM transitions, and collision energies of the studied compounds (in bold quantifier transitions) (Lisanti et al., 2021).

Compound	Molecular mass (g/mol)	Boiling point (°C)[a]	Log P[b]	RT (min)	Precursor ions (*m/z*)	Product ions (*m/z*)	Collision energy (V)
limonene	136,2	176	4,8	17,3	**93**	**77**	12
					93	91	8
					121	93	8
1,8-cineole	154,2	176,4	3,1	17,5	**108**	**93**	6
					84	69	6
					108	77	6
camphor (IS)	152,2	207,4	3,0	24,9	**108**	**93**	8
					95	67	10
					152	108	6
menthone	154,2	207	2,9	25,6	**112**	**97**	6
					154	139	6
					112	70	10
pulegone	152,2	224	3,2	31,4	**152**	**81**	10
					81	79	8
					152	137	6
carvone	150,2	231	3,1	31,7	**82**	**54**	6
					108	93	8
					108	77	20
piperitone	152,2	233	3,1	32,4	**110**	**95**	8
					82	54	6
					110	77	20
neomenthyl acetate	198,3	234.5*	4,4	33,9	**138**	**95**	10
					95	67	10
					123	81	10
menthyl acetate	198,3	229,5	4,4	35,2	**138**	**95**	10
					95	67	10
					123	81	10
mintlactone	166,2	285.19*	1,9	47,4	**166**	**81**	14
					137	109	6
					166	138	6

[a] Experimental boiling point at 760 mm Hg (EPI Suite v.4.11 TM United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA), asterisk indicates predicted boiling point
[b] Theoretical LogP were calculated using (EPI Suite v.4.11 TM United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA)

Pour cela, de nombreux essais d'optimisation ont eu lieu, puis, les meilleures conditions tels que, la fibre (pDMS-DVB), le volume de l'échantillon (5 mL vin + 5 ml d'eau), la quantité de NaCl (4 g), la température/temps d'extraction (50°C-60 min) et la vitesse d'agitation (500 rpm) ont été retenues. Enfin, les paramètres de validation tels que la linéarité, les limites de détection et de quantification, la répétabilité et la reproductibilité ont montré que les composés pouvaient être détectés et quantifiés avec cette méthode SPME-arrow-GC-MS/MS optimisée. Ces paramètres sont présentés dans le **Tableau 28**.

Tableau 28. Validation parameters (Calibration curves parameters, LOD and LOQ, repeatability and reproducibility) of the optimized SPME-Arrow-GC-MS/MS method (Lisanti et al., 2021).

Compound	Calibration curves				Detection and quantification limits		Intraday precision (repeatability)						Interday precision (reproducibility)	
	Concentration range (ng/L)	R^2	Slope (x1000)	Lack of fit (Ftab/Fcalc/n/p)*	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)	spiking 1 (ng/L)	Mean concentration	RSD (%)	spiking 2 (ng/L)	Mean concentration	RSD (%)	Mean concentration	RSD (%)
limonene	695-2976	0.9517	3.096	2,58/0,384/9/3	36	116	38.0	864	18.8	380.2	945	11,0	1146	23.3
1,8-cineole	34.9-2480	0.9971	3.503	2,34/0,339/11/3	20	60	24.5	59.6	5.8	245.0	291	1.7	284.0	9.8
menthone	5.8-3759	0.9978	4.005	2,25/0,043/12/3	3	6	37.6	46.0	3.5	375.8	391	3.2	385.3	9.6
pulegone	6.0-2989	0.9986	1.495	2,34/0,443/11/3	3	8	29.9	32.6	5.0	298.9	311	4.2	284.3	7.8
carvone	32.8-2931	0.9913	1.541	2,34/0,224/11/3	9	27	29.0	53.9	25.1	290.4	266	11.6	283.9	10,9
piperitone	13.8-3805	0.9993	2.478	2,25/0,039/12/3	5	17	37.9	50.6	6.2	379.5	386	5.3	383.0	7.2
neomenthyl acetate	18.0-2540	0.9952	5.393	2,25/1,289/12/3	3	11	25.2	42.3	7.9	252.5	279	7.5	283.9	12.9
menthyl acetate	14.4-3465	0.9914	5.733	2,25/0,194/12/3	4	15	34.5	50.4	6.0	345.4	370	7.8	390.1	12.8
mintlactone	103-2574	0.9858	0.064	2,74/0,0001/8/3	60	200	618	617	11.6	1544	1700	6.2	1355	11.1

(Ftab/Fcalc/n/p) *: Table F/calculated F/n: number of tested concentration levels / p: number of replicates.

Tableau 29. Analyte recoveries using the optimized method on a set of five red Bordeaux wines (*Range of experimental concentration of) (Lisanti et al., 2021).

Compound	Initial concentration		Theoretical concentration of spiking 1 (ng/L)	*Spiking 1 (ng/L, n=5)	Recovery (%, n=5)			Theoretical concentration of spiking 2 (ng/L)	*Spiking 2 (ng/L, n=5)	Recovery (%, n=5)			Theoretical concentration of spiking 3 (ng/L)	*Spiking 3 (ng/L, n=5)	Recovery (%, n=5)		
	Range (ng/L)	RSD (%)			Range	Mean	RSD			Range	Mean	RSD			Range	Mean	RSD
limonene	69-506	1-11	665	546- 80	82-117	102	14	1188	1050-1399	88-118	102	12	1758	1654-2045	94-116	104	9
1,8-cineole	80-1221	1-6	49	43-49	88-100	93	5	784	671-823	86-105	99	8	1813	1695-1903	93-105	96	5
menthone	7-22	1-8	23	20-22	87-96	94	4	1202	1013-1185	84-99	94	6	2781	2492-2720	90-98	93	3
pulegone	<LOQ-19	2-8	36	33-36	92-100	96	4	956	825-913	86-95	91	4	2212	1891-2009	85-91	87	3
carvone	<LOQ-58	2-8	232	192-223	83-96	89	5	929	796-892	86-96	91	4	2149	1789-1947	83-91	87	3
piperitone	25-2312	1-6	152	140-174	92-115	100	10	1214	1070-1234	88-102	93	5	2808	2274-2434	81-87	84	2
neomenthyl acetate	246-2234	2-8	101	99-108	98-107	102	4	808	676-959	84-119	102	16	1869	1522-2020	81-108	101	11
menthyl acetate	31-175	1-12	138	144-157	104-114	109	3	1105	1011-1319	91-119	109	10	2556	2727-3049	107-119	113	6
mintlactone	<LOQ		721	593-739	82-103	94	7	1287	1065-1236	83-96	90	5	1905	1526-1772	80-93	87	6

Les conditions de précision de la méthode ont aussi été vérifiées dans 5 vins rouges, chacun enrichi avec les composés à trois niveaux de concentrations différents. Les résultats ont montré une justesse satisfaisante pour tous les composés étudiés allant de 80 à 120% pour chaque ajout réalisé. Les détails de ces résultats sont présentés dans le **Tableau 29**. Enfin, la méthode a été appliquée à l'analyse des composés à odeur « menthée » dans 14 vins rouges de Bordeaux commerciaux puis à l'analyse de ces composés dans les 80 vieux vins rouges de Bordeaux de l'étude, âgés de 11 à 28 ans.
Cette méthode présente des avantages conséquents tels que l'utilisation de la technique SPME Arrow, rapide pour le manipulateur et sans utilisation de solvants d'extraction. Un avantage crucial pour ce travail de thèse est le gain de volume d'échantillon (seulement 5 mL). Parmi les autres avantages de la méthode, sa sensibilité permet de pouvoir détecter les composés avec des teneurs de l'ordre du ng/L.

3.1.3.2 Les teneurs en composés à odeur « menthée »

Les teneurs moyennes des terpènes à odeur « menthée » sont présentées sur la **Figure 13** et le détail des teneurs par millésime et crus est présenté en annexe 8.4. Deux des composés n'ont pas été détectés dans ces vins, il s'agit du pulégone et de la mintlactone. Leurs teneurs se situaient en dessous du seuil de quantification et parfois en dessous du seuil de détection de la méthode. Pour les autres composés, les concentrations mesurées dans les vins de l'étude sont en accord avec celles citées par Picard (2015), dans des séries de vins comparables. Seules les concentrations de menthylacétate et néomenthylacétate n'ont pas été déterminées lors de cette précédente étude. De plus, les teneurs de pipéritone étaient 6 fois plus élevées dans cette première série de vins étudiée tandis que le 1,8-cinéole étaient quasiment 5 fois plus concentré. En revanche, les teneurs que nous avons obtenues pour ces deux derniers composés sont en accord avec celles mesurées dans des vins de travaux publiés (Fariña et al., 2005; Pons et al., 2016; Poitou et al., 2017). Les concentrations obtenues dans les vins de l'étude se situeraient en dessous de leur seuil de perception olfactif. Cependant, ces seuils sont complexes à mesurer et la répartition des sensibilités est multimodale. La contribution au caractère « menthé » dans les vins supposerait un effet indirect de ces composés. La contribution au caractère « frais » par le biais d'interactions perceptives ou par un phénomène de mélange perceptuel a déjà été étudiée et mise en lumière dans les vins rouges et les spiritueux âgés (Picard et al., 2017a; Thibaud et al., 2020).

La **Figure 13**, permet de visualiser que, pour la carvone et la menthone, il existe de nombreux échantillons dont les teneurs sont inférieures aux seuils de quantification de la méthode. D'autre part pour les deux acétates, les teneurs dans les vins des crus 1 et 2 varient largement. De plus, les teneurs du 1,8-cinéole et de la pipéritone ne paraissent pas véritablement différentes d'un cru à l'autre malgré le fait que quelques vins en soient riches. Cela pourrait laisser penser qu'un effet millésime peut générer

des variations. Ce point est conforté par le fait que l'origine variétale de ces molécules a largement été décrite dans la littérature (Capone et al., 2011, 2012; Picard et al., 2016b).

Même si la genèse de ces composés n'est pas encore totalement élucidée, des hypothèses plus ou moins validées concernant leur origine dans le raisin et leur révélation au vieillissement sont à explorer. Une voie de dégradation du limonène dans d'autres espèces végétales, comme la menthe poivrée par exemple (Mahmoud and Croteau, 2003), constitue un point de départ pour travailler dans ce sens et essayer de comprendre si ces composés aux caractères rafraichissants ont des liens avec les origines des raisins. Ce point sera développé au cours de la partie 2 de ce travail (Partie 2, Chapitre 3, paragraphe 3.2, page 162).

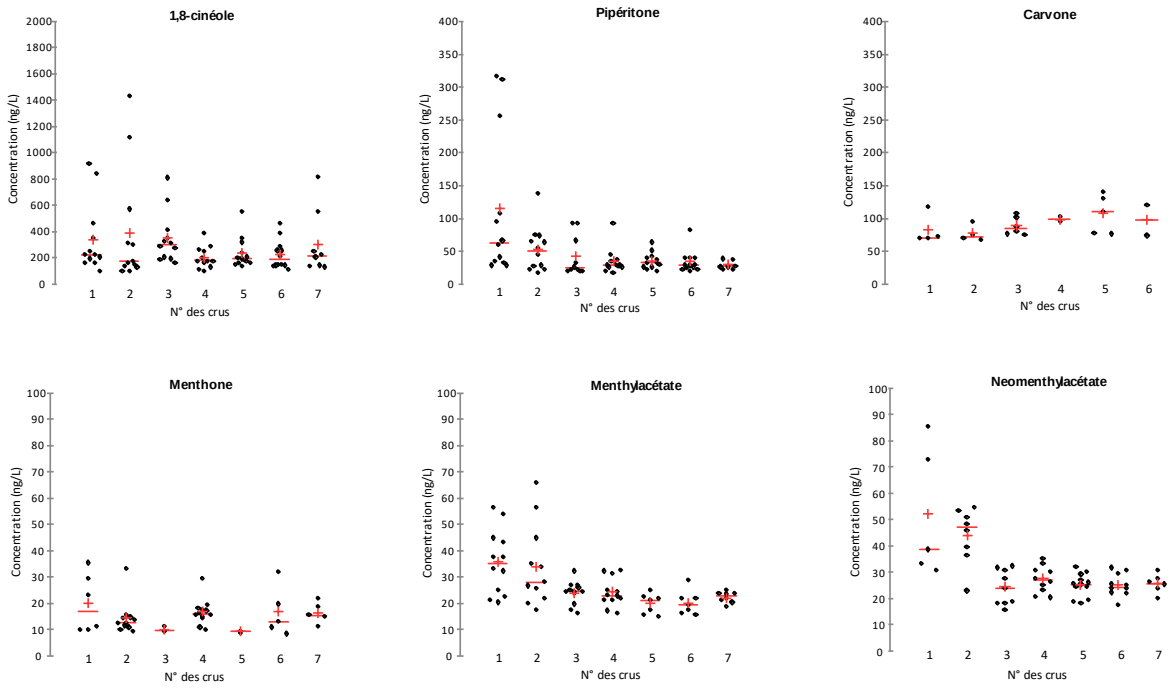


Figure 13. Dispersion des teneurs (en ng/L) des composés à odeur "menthée" quantifiés dans les vins de chaque cru.

3.1.4 Teneurs en esters

La méthode de dosage des 32 esters par SPME-GC-MS développée par Antalick et al. (2010), nous a permis de doser plusieurs familles d'esters présents dans les vins. Sur les 32 esters quantifiés, seulement ceux appartenant à la famille des esters éthyliques d'acides gras (EEAG), des acétates d'alcools supérieurs (AAS) et des esters éthyliques d'acides substitués (EEAS) seront présentés car ils sont les plus abondants et sont intéressants pour leurs caractéristiques sensorielles et leur dynamique au cours du vieillissement. Dans cette partie, les esters issus de la voie d'estérification chimique nécessitent une

attention particulière. Il s'avère que, parmi les esters éthyliques d'acides substitués (EEAS), seuls les quatre portant un substituant alkyle sont quantifiés et leurs teneurs sont représentées sur la **Figure 14**. Les autres esters d'acides substitués portant un hydroxyle sont dosés par une méthode d'extraction liquide-liquide et injection en GC-MS que nous n'avons pas utilisé. Les graphiques de dispersion des teneurs des deux familles d'esters d'origine fermentaire (esters éthyliques d'acides gras et acétates d'alcools supérieurs) sont présentés en annexe 8.5. Le détail des teneurs de chaque composé par millésime et par crus est présenté en annexe 8.6.

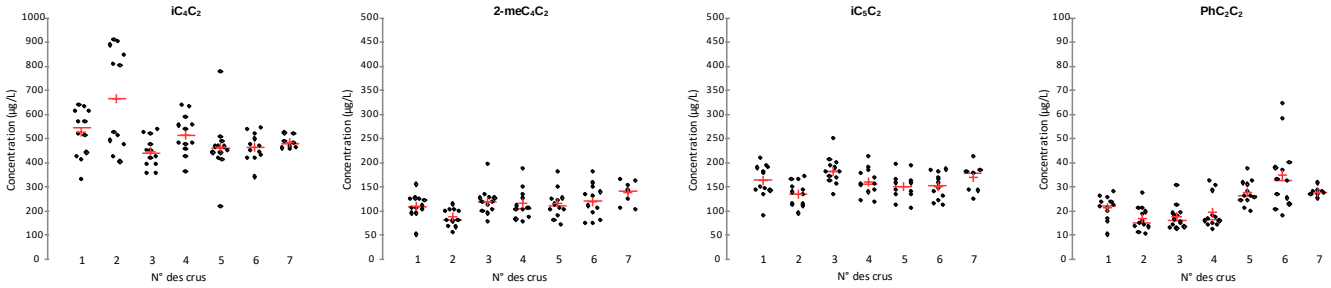


Figure 14. Dispersion des teneurs (en µg/L) des esters éthyliques d'acides substitués quantifiés dans les vins de chaque cru.

Les teneurs obtenues pour les esters d'acides substitués sont comparables à celles quantifiées par Antalick dans les vieux vins rouges âgés au maximum de 29 ans (Antalick et al., 2014). Dans le cas des vins de l'étude, on observe les teneurs en 2-méthylpropanoate d'éthyle (iC_4C_2) et en 2-méthylbutanoate d'éthyle ($2\text{-}meC_4C_2$) sont deux fois supérieures aux concentrations de ces composés quantifiés dans les vins bordelais de l'étude d'Antalick. On remarque que, visuellement, les teneurs de ces composés sont plus ou moins similaires à l'intérieur des crus, si l'on excepte le cru n°2 qui a présenté plusieurs millésimes (1995, 2002, 2004, 2005, 2006 et 2007) avec de très fortes concentrations en 2-méthylpropanoate d'éthyle (iC_4C_2). La présence importante de ce composé dans les millésimes plutôt « jeunes » de ce Château est surprenante, mais leur effet exhausteur des notes « fruits noirs » pourrait jouer un rôle important dans la conservation du caractère « fruité » de ces vins. De plus, des travaux ont montré que les esters éthyliques d'acides substitués étaient les plus odorants grâce à l'ajout d'un groupe méthyle sur la chaîne carbonnée de la courte chaîne des acides gras, ce qui induit une diminution du seuil de détection (Takeoka et al., 1995).

D'autre part, les teneurs obtenues pour les esters éthyliques d'acides gras et les acétates d'alcools supérieurs se situent globalement dans le même ordre de grandeur que celles obtenues dans l'étude d'autres vins rouges de Bordeaux (Antalick et al., 2014). Les teneurs obtenues par Antalick sont comprises entre 0,59 et 365 µg/L pour différents esters éthyliques d'acides gras et dans notre cas, les

teneurs moyennes varient entre 0,5 et 196,5 µg/L. La même tendance est observée pour les acétates d'alcools supérieurs, mis à part le fait que, pour 3 composés (l'acétate de 2-méthylpropyle (C_2iC_4), l'acétate de butyle (C_2C_4) et l'acétate de 2-phényléthyle (C_2PhC_2)), les teneurs mesurées dans les vins de l'étude sont plus élevées (en moyenne : 92 ; 51 ; 70 µg/L respectivement face à 60 ; 0,2 ; 37 µg/L de l'étude d'Antalick). Globalement, après quasiment 30 ans de vieillissement, les composés de ces deux familles d'esters d'origine fermentaires sont bien conservés dans ces vins. Cela n'est pas surprenant, car il a déjà été montré que l'hydrolyse des acétates d'alcools supérieurs dans les vins rouges étaient limitée, due à la présence de composés phénoliques en grande quantité (Roussis et al., 2007; Antalick et al., 2014). Ainsi, la présence de ces esters favoriserait la conservation des nuances « fruits frais » caractéristiques de la jeunesse des vins mais nécessaires à l'expression d'un grand bouquet de vieillissement. La capacité de ces vins à conserver naturellement les traits de leur jeunesse pourrait être l'un de leurs atouts.

3.1.5 Teneurs en cyclotène et isophorone

La méthode mise au point par Le Menn (2018) par SPME-GC-MS, nous a permis de quantifier le cyclotène et l'isophorone dans les vins rouges de notre étude. Les concentrations par échantillon sont présentées en annexe 8.7.

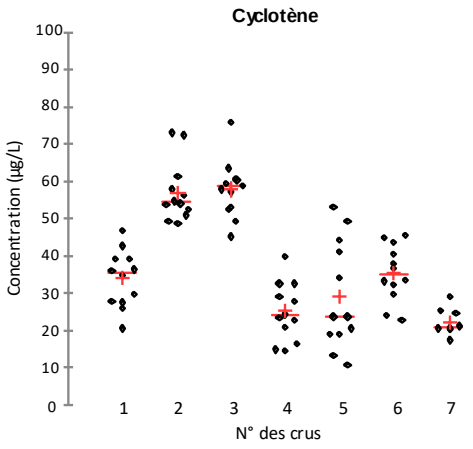


Figure 15. Dispersion des teneurs (µg/L) en cyclotène quantifiées dans les vins de chaque cru.

Le cyclotène était présent dans la majorité des échantillons au-dessus de la limite de quantification de la méthode. Au contraire, l'isophorone est généralement en dessous de sa limite de quantification voire très proche. La **Figure 15** présente la dispersion des teneurs en cyclotène mesurées dans les vins de

l'étude. Les concentrations (10 à 80 µg/L) se situent dans le même ordre de grandeur que celles déterminées dans les vins de réserve de Champagne (10 à 30 µg/L) (Le Menn, 2018). À notre connaissance, il n'existe pas de publication rapportant les teneurs en cyclotène et isophorone dans les vins rouges classiques. Si l'on compare les vins issus des deux sous espaces bordelais (libournais et Médoc), une différence de concentration pourrait être identifiée. Ces différences seront mesurées à l'aide de statistiques dans le paragraphe 3.5 (page 115). Sa contribution au bouquet de vieillissement d'un point de vue analytique et sensoriel semble intéressante à étudier.

3.1.6 Teneurs en DMS

La quantification du DMS par SPME-GC-MS a été réalisée dans les 80 vins rouges de l'étude. Les teneurs obtenues sont représentées sur la **Figure 16** et les concentrations par millésimes et crus sont détaillées en annexe 8.8.

Les teneurs obtenues pour ce composé sont en accord avec celles obtenues dans plusieurs vins rouges et décrites dans la littérature (Marais, 1979; de Mora et al., 1986; Anocibar Beloqui et al., 1996; Mestres et al., 2000b; Segurel et al., 2005). Elles sont aussi en accord avec les concentrations mesurées dans les vieux vins rouges de Bordeaux issus des millésimes 1994 à 2005 (Picard, 2015). Les teneurs obtenues, sont supérieures à un seuil de détection olfactif déterminé dans le vin rouge (27 µg/L) (Anocibar Beloqui et al., 1996). Cependant, nous verrons dans un chapitre à venir, portant sur les interactions entre le DMS et la matrice, que cette valeur de seuil est largement discutable (Partie 3, Chapitre 5).

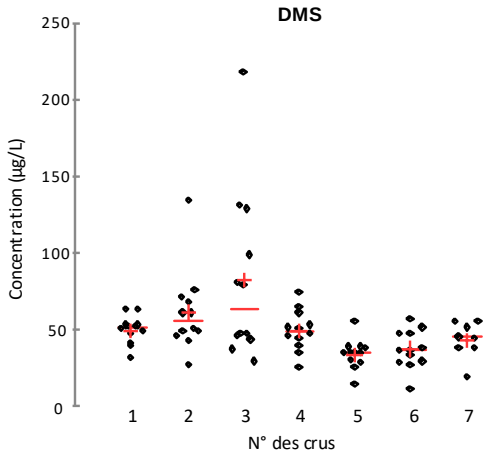


Figure 16. Dispersion des teneurs (en µg/L) en DMS quantifiées dans les vins de chaque cru.

En outre, il a déjà été démontré qu'un ajout de DMS de l'ordre de 100 µg/L augmenterait les notes de « truffe » et de « sous-bois » dans les vins de syrah mais également que sa présence induirait

l'augmentation des esters dans l'espace de tête du verre et favoriserait les notes de « cassis » dans les vins (Lytra et al., 2014b; Cameleyre, 2017). Cet ensemble de références et de mesures consolide l'hypothèse avancée par Picard (2015) selon laquelle le DMS jouerait un rôle actif dans la complexité olfactive du bouquet de vieillissement. C'est une des raisons pour laquelle nous avons choisi d'explorer plus en détails les paramètres qui influencent la révélation du DMS dans les vins. Les études et les résultats sont exposés dans la dernière partie de ce manuscrit (Partie 3).

Lorsque l'on observe les valeurs des teneurs en DMS sur l'ensemble des crus qui constituent l'étude, on peut remarquer que les moyennes obtenues sont semblables. Cependant, une grande dispersion des données est observée pour le cru n°3 avec trois millésimes (1999, 2000 et 2007) très riches en DMS (de 130 à 220 µg/L respectivement). Étant donné que ce composé prendrait également naissance dans le raisin et serait libéré au vieillissement, les observations de son comportement sur le cru n°3 révèlerait que le DMS serait très dépendant de l'effet du millésime.

3.1.7 Conclusion partielle sur les données quantitatives

Après analyse des données bibliographiques, 6 familles de molécules ont été désignées comme pouvant contribuer à l'expression du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux. À l'aide de méthodes de quantification disponibles ou développées *had hoc*, 62 molécules ont été quantifiées dans les 80 vieux vins rouges de Bordeaux. Une première approche globale des résultats a montré que la composition moléculaire de ces vins est relativement riche pour plusieurs molécules en comparaison aux valeurs issues de la littérature. Cette approche ciblée de composés potentiellement impliqués, nous permet d'avoir une base de données importante pour avancer dans la caractérisation du vieillissement qualitatif. Désormais, le recours à une méthodologie statistique est nécessaire pour tenter de mettre en évidence des liens (statistiques) entre les molécules, la typicité et les odeurs du bouquet mais également, d'établir des comparaisons de crus grâce à la composition moléculaire. Cette approche permettra, dans un second temps, de revisiter ces liens statistiques par des approches expérimentales.

3.2 Corrélations des teneurs en composés volatils avec les âges des vins

Les précédentes études ont observé que les teneurs de certains composés potentiellement impliqués dans l'expression du bouquet (comme les esters ou le DMS) augmentent ou diminuent au cours des 10 premières années de vieillissement avant d'atteindre un plateau (Antalick et al., 2014; Slaghenaufi et al., 2014; Picard, 2015; Le Menn, 2018). C'est probablement après avoir atteint cet état d'équilibre, que les vins expriment au mieux leur bouquet et qu'ils doivent être bus. Dans le cas inverse, ils entameront une phase de déclin et les arômes seront dominés par des notes d'oxydations communes et considérées

comme défectueuses (Peynaud, 1980; Pons et al., 2008). En ce qui concerne le bouquet de vieillissement, les vins doivent à la fois exprimer les attributs fruités de leur jeunesse, la complexité et les arômes acquis au cours de leur évolution et faire honneur à la terre dont ils sont issus. C'est donc en étudiant les vins qui ont atteint ce plateau et qui expriment le bouquet, que nous pouvons espérer comprendre en quoi le climat, la terre et les hommes conditionnent l'image sensorielle du vin mature.

Avant toute conclusion hâtive, nous devons vérifier si les variations des teneurs des composés étudiés ne sont pas simplement liées à l'âge des vins. Dans ce cas, leur présence serait le simple révélateur du temps qui passe indépendamment de la qualité du vin. Pour cette vérification, nous sommes conscients d'avoir assimilé les âges des vins avec la durée de vieillissement (qui pourrait être mesurée pour un échantillon homogène que l'on laisserait vieillir et analyserait au cours du temps). Cette approximation est rendue nécessaire par l'ordre de grandeur de ces durées de vieillissement (10 à 30 ans), mais aussi par le fait *(i)* que deux bouteilles de vin vieillissantes acquièrent des différences et *(ii)* qu'il n'est pas aujourd'hui possible de prélever du vin dans une bouteille fermée sans perturber le système.

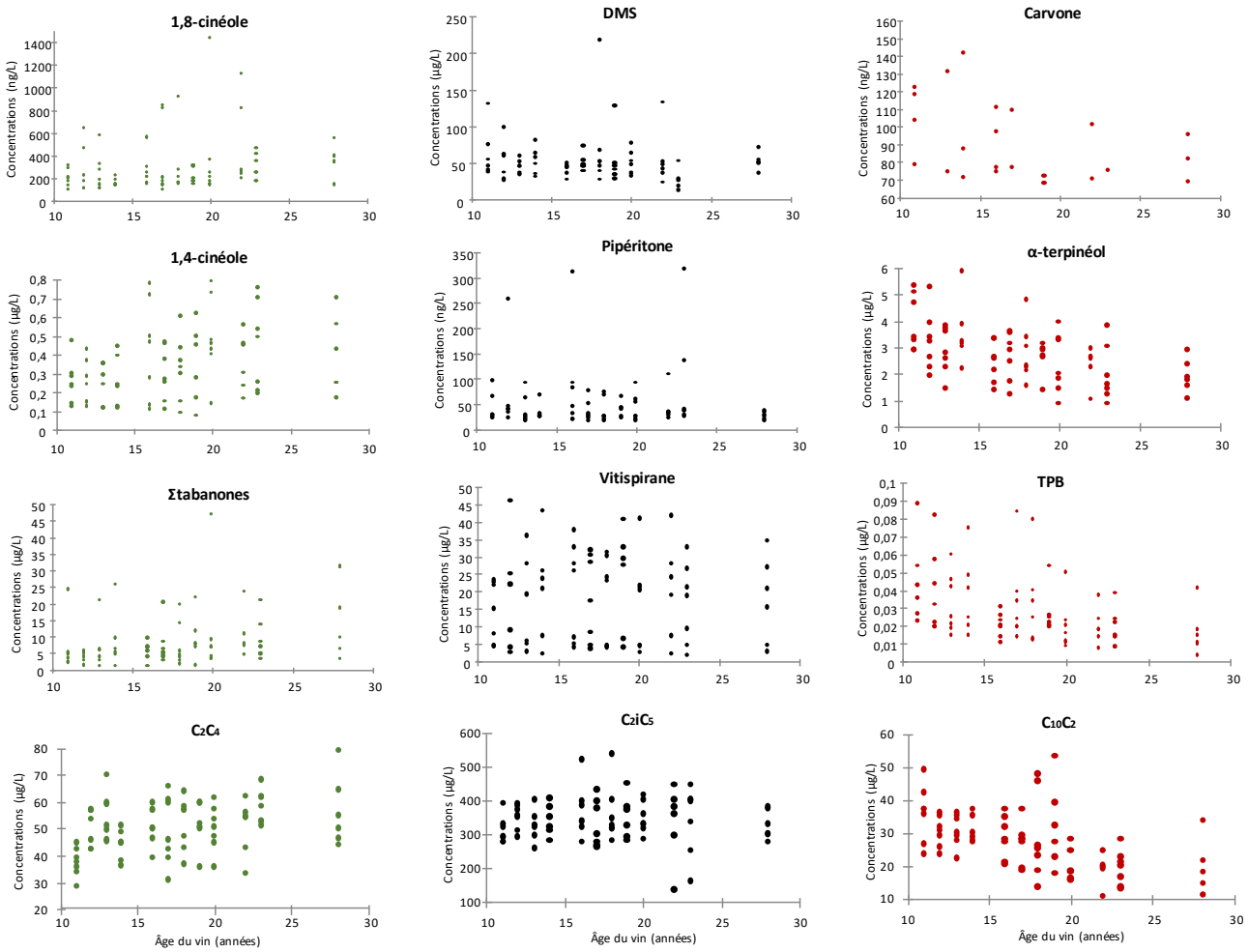


Figure 17. Exemples de tendances adoptées par les teneurs des composés en fonction des âges des vins (corrélation avec l'âge qui semble positive (en vert), négative (en rouge) et absente (en noir)).

La première approche a été d'observer le comportement des molécules en fonction de l'âge du vin pour l'ensemble du panel de vins. Pour cela, des nuages de points ont été réalisés pour chaque composé afin de poser des hypothèses sur le type de corrélation qui pourrait exister. Cette démarche a d'abord été réalisée sur l'ensemble des échantillons (*n*=80), puis sur les groupes d'échantillons appartenant à chaque rive et enfin à chaque cru. La **Figure 17** est un exemple des trois tendances adoptées par les composés sur la tranche 10-30 ans et sur l'ensemble des échantillons (*n*=80). La première colonne représente les composés dont les teneurs ont tendance à augmenter avec l'âge des vins (nuages de points verts). Au centre, on retrouve d'autres composés dont les teneurs sont indépendantes des âges (plateau – nuages de points noirs). La colonne de droite représente un exemple de composés pour lesquels, on observe une tendance à la diminution des concentrations lorsque les vins vieillissent (nuages de points rouges).

En complément de ces observations, l'approche par l'analyse statistique (test de corrélation de type Spearman) a permis de rationaliser les tendances. Le **Tableau 30** présente les matrices de corrélations significatives avec des tendances positives et négatives (en lien avec les nuages de points verts ou rouges de la **Figure 17**) ainsi que des matrices de corrélation non significatives où des tendances quasiment nulles sont observées (en lien avec les nuages de points noirs) pour l'ensemble des échantillons (*n*=80).

Une absence de corrélation est observée pour la plupart des composés (colonne du centre). Les teneurs des composés tels que le DMS, le cyclotène, quelques terpènes comme la pipéritone, les terpinènes, quelques C_{13}-norisoprénoïdes comme la β-damascénone, le TDN et le vitispirane, de nombreux esters ainsi que le furfural, la vanilline et le syringaldéhyde (appartenant aux composés issus du bois de chêne), ne sont pas corrélés à l'âge des vins. Ce test confirme l'observation visuelle des nuages de points (**Figure 17**, colonne du centre) où l'on n'observe pas une tendance positive ou négative significative avec l'âge des vins. Pour ces composés, il n'est pas nécessaire de prendre en considération le facteur « âge » dans les études sur les liens entre la qualité, le bouquet, l'origine et la composition chimique. D'autre part, on peut en déduire que, dans la tranche d'âge étudiée, ces composés se sont potentiellement accumulés dans les vins lors des 10 premières années de vieillissement ou bien, qu'ils sont encore présents après 10 ans de vieillissement avec une évolution des composés qui reste stable. Les vins ont atteint un plateau dans leur processus de maturation. Ces observations rejoignent celles décrites par Antalick et al. (2014) sur différents vins rouges et Le Menn (2018) sur des vins de réserve de Champagne.

Ensuite, les teneurs de certains composés ont tendance à diminuer de manière significative (p-value < 0,05) dans la tranche d'âge des vins étudiés. Parmi ces composés, on remarque que l'α-terpinéol, le TPB et la plupart des esters éthyliques d'acide gras suivent cette tendance. Ces observations sont en accord avec celles décrites par Antalick et al. (2014) et Slaghenaufi et Ugliano (2018) lors de précédentes études. En revanche, ces matrices de corrélation sont assez faibles (<0,5), ce qui nous laisse supposer que ces composés ont déjà subi une évolution nette les 10 premières années de vieillissement et continuent ensuite leur évolution de manière plus douce.

Tableau 30. Corrélation (Spearman) entre les teneurs en composés volatils et les âges des vins (rives et crus confondus, *n*=80).

Corrélation positive				Absence de corrélation				Corrélation négative			
Molécule	Matrice de corrélation	p-value	R^2	Molécule	Matrice de corrélation	p-value	R^2	Molécule	Matrice de corrélation	p-value	R^2
Terpènes « menthés »				DMS	-0,137	0,225	0,019	***Terpènes « menthés »***			
1,8-cinéole	0,317	0,004	0,100	Cyclotène	0,048	0,670	0,002	Carvone	-0,465	0,027	0,216
								Néomenthylacétate	-0,265	0,041	0,070
Terpènes				***Terpènes « menthés »***							
1,4-cinéole	0,321	0,004	0,103	Limonène	-0,361	0,130	0,130	***Terpènes***			
Oxyde de *cis*-linalol	0,231	0,040	0,053	Pipéritone	-0,043	0,708	0,002	α-terpinéol	-0,459	<0,0001	0,211
Oxyde de *trans*-linalol	0,243	0,030	0,059	Menthone	-0,268	0,079	0,072	Terpinèn-4-ol	-0,320	0,004	0,102
Salicylate de méthyle	0,362	0,001	0,131	Menthylacétate	0,085	0,487	0,007				
				Terpènes				***C_{13}-norisoprénoïdes***			
C_{13}-norisoprénoïdes				α-terpinène	-0,050	0,661	0,002	TPB	-0,492	<0,0001	0,242
Σtabanones	0,335	0,003	0,112	γ-terpinène	0,046	0,687	0,002				
				α-phellandrène	0,102	0,369	0,010	***Esters***			
Esters				Nérolidol	-0,082	0,501	0,007	C_3C_2	-0,245	0,029	0,060
C_2C_4	0,345	0,002	0,119	Bisabolol	-0,060	0,596	0,004	C_8C_2	-0,253	0,024	0,064
C_2C_6	0,316	0,004	0,100	*p*-cymène	0,251	0,271	0,063	$C_{10}C_2$	-0,604	<0,0001	0,365
2-meC_4C_2	0,251	0,025	0,063	Terpinèn-1-ol	0,210	0,061	0,044	$C_{12}C_2$	-0,314	0,005	0,098
iC_5C_2	0,366	0,001	0,134								
				C_{13}-norisoprénoïdes							
Composés issus du bois				β-damascénone	0,143	0,206	0,020	***Composés issus du bois***			
5MF	0,266	0,017	0,071	TDN	0,212	0,059	0,045	*trans*-Whiskylactone	-0,313	0,005	0,098
Gaïacol	0,474	<0,0001	0,225	Vitispirane	0,022	0,846	0,0005	cis-Whiskylactone	-0,383	0,0005	0,147
cis-isoeugénol	0,318	0,004	0,101					Eugénol	-0,352	0,001	0,124
Syringol	0,530	<0,0001	0,281	***Esters***				*trans*-isoeugénol	-0,480	<0,0001	0,231
Acétovanillone	0,274	0,014	0,075	C_4C_2	-0,194	0,085	0,038				
Acétosyringone	0,330	0,003	0,109	C_6C_2	-0,169	0,134	0,029				
				C_2C_3	0,044	0,701	0,002				
				C_2iC_4	0,217	0,053	0,047				
				C_2iC_5	0,112	0,323	0,012				
				C_2PhC_2	0,076	0,502	0,006				
				iC_4C_2	-0,136	0,229	0,018				
				PhC_2C_2	0,001	0,994	$6,8.10^{-7}$				
				Composés issus du bois							
				Furfural	0,173	0,125	0,030				
				Vanilline	0,002	0,987	$3,5.10^{-6}$				
				Syingaldéhyde	-0,174	0,122	0,030				

A l'inverse, certains composés sont corrélés de manière positive et significative à l'âge des vins (p-value <0,05). Même si ces corrélations sont assez faibles (<0,5), on peut noter que les tabanones, les esters éthyliques d'acides substitués (iC_5C_2 et 2-meC_4C_2) ont déjà été décrits pour être de bons marqueurs de vieillissement des vins car ils sont connus pour s'accumuler au cours du vieillissement (Díaz-Maroto et al., 2005; Antalick et al., 2014; Slaghenaufi et al., 2014; Lytra et al., 2017). Les esters d'acides substitués sont connus pour être le produit de l'estérification de l'éthanol avec les acides 3-méthylbutanoïque et 2-méthybutanoïque, eux-mêmes formés par la levure *Saccharomyces cerevisiae* (voie d'Ehrlich) lors de la fermentation alcoolique (Sumby et al., 2010; Lytra et al., 2017). Les travaux de Lytra et al. (2017), ont montré que ces estérifications semblent agir les 20 premières années de vieillissement en bouteille. De plus et de manière surprenante, deux esters de la famille des acétates d'alcools supérieurs (C_2C_4 et C_2C_6) seraient corrélés de manière positive avec l'âge des vins. Ils présentent des matrices de corrélation parmi les plus élevées de la série. Or, normalement, les concentrations de ces esters diminuent au cours du vieillissement des vins par hydrolyse (Antalick et al., 2014). Dans l'étude de Le Menn (2018), l'acétate de butyle (C_2C_4) voyait aussi ses concentrations augmenter de manière significative avec l'âge des vins. L'hypothèse suggérée était que, par la faible quantité de C_2C_4 retrouvée dans les vins jeunes de réserve de Champagne, l'estérification du butanol et de l'acide acétique au cours du vieillissement était supérieure à l'hydrolyse de l'ester C_2C_4 formé. Lors de notre étude, nous n'avons pas dosé ce composé dans les vins jeunes correspondants mais il se pourrait que l'hypothèse soit aussi plausible dans notre cas. Dans un objectif de compréhension des mécanismes, un travail de modélisation pourrait être fait. Cependant, au vue du faible intérêt sensoriel de ces acétates, nous avons choisi de ne pas consacrer de temps à cet objectif.

D'autre part, les teneurs en terpènes, en terpènes cycliques (les cinéoles par exemple) et en monoterpènes oxydés serait corrélés positivement et significativement avec l'âge des vins en accord avec la littérature (Slaghenaufi and Ugliano, 2018). Pour le 1,4-cinéole, une potentielle dégradation du terpinèn-4-ol pourrait opérer (Antalick et al., 2015). Une fois formés, ces composés terpéniques et oxydés seraient stables dans le vin. Ils ont déjà été quantifiés dans des vins de riesling âgés de plus de 20 ans (Simpson, 1979).

De manière générale, les nombreuses molécules étudiées ont des comportements différents en fonction de l'âge des vins. Pour une série de composés, les vins semblent avoir atteint un plateau et certaines molécules ne s'accumulent plus. D'autre part, il semble intéressant de se demander si l'âge (inconnu lors des dégustations) a eu un impact sur le jugement de typicité des vins. Le dégustateur identifiant un vin vieux, aurait peut-être plus de facilité à lui attribuer une note haute de typicité. Pour autant, comme le montre la **Figure 18**, cette corrélation n'est pas parfaite ce qui implique que l'âge n'a pas été le seul facteur dans le jugement de typicité. Nous ne pouvons donc pas être assurés qu'il s'agisse d'un jugement de qualité et non pas d'une association d'idées. Pour la suite du raisonnement, seuls les composés qui

ne sont pas liés à l'âge (plateau, composés de la colonne du milieu **Tableau 30**) seront conservés pour constituer une série d'indicateurs qui pourrait nous servir à explorer les influences des origines des vins sur leur composition.

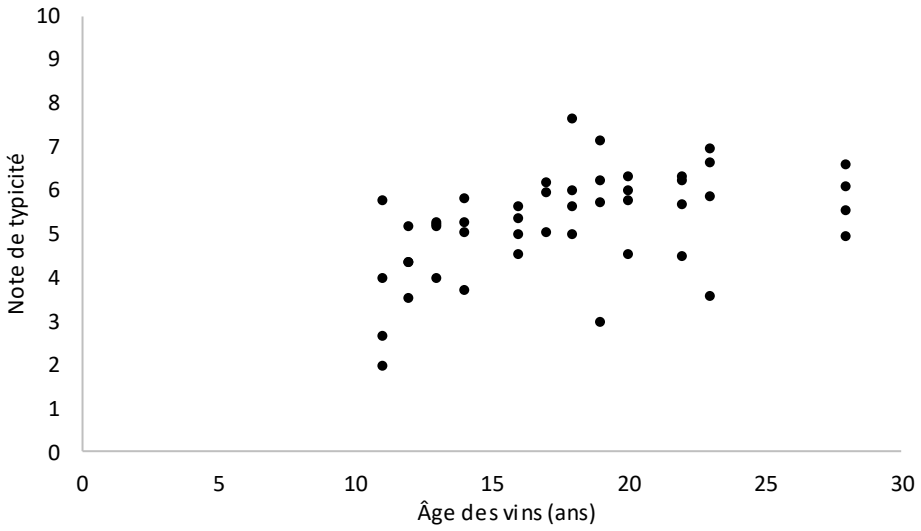


Figure 18. Corrélation entre les âges des vins et leur note de typicité attribuée lors des dégustations.

Le bouquet de vieillissement est bel et bien un phénomène révélé par le passage du temps. Après cette révélation, les composés qui en sont responsables peuvent cesser de s'accumuler ou de se dégrader. Ils deviennent alors les témoins des origines des vins et des millésimes. Cependant, le développement de ce bouquet n'apparait pas systématiquement. Pour certains millésimes et crus, les vins pourrons accéder seulement à un niveau de qualité moyen ou, plus souvent, acquérir des notes oxydatives communes et non liées aux terroirs. La question de notre étude est de savoir comment le bouquet va être conditionné dans la jeunesse du vin ou du raisin.

3.3 Composés aromatiques impliqués dans le bouquet de vieillissement

3.3.1 Composés liés à la typicité du bouquet de vieillissement

Afin de prendre connaissance des composés qui seraient potentiellement corrélés à la typicité du bouquet de vieillissement, nous n'avons considéré (dans cette partie), que ceux dont l'âge n'a pas influencé leur présence dans les vins. Cela nous permet de considérer seulement la qualité intrinsèque des vins. Donc, l'objectif de cette sous-partie est d'observer la contribution de divers composés dans la typicité du

bouquet de vieillissement. Afin de visualiser à la fois les liens entre les descripteurs, les molécules quantifiées et les vins, une régression PLS a été effectuée. La régression PLS est une méthode statistique qui permet d'identifier les relations entre plusieurs variables grâce à l'analyse statistique descriptive et le modèle de régression. Il existe des variables explicatives (X) soit, dans notre cas, les teneurs en composés volatils et les variables expliquées (Y) soit, ici, les notes de typicité, les notes des intensités des trois descripteurs aromatiques et l'âge des vins. Cette analyse a été entreprise sur les échantillons dont, à la fois, la typicité et les descripteurs aromatiques ont été jugés de manière « consensuelle » (Partie 1, Chapitre 2, **Tableau 9**, page 64 et **Tableau 11,** page 69).

Dans un premier temps, nous avons cherché à déterminer si les composés volatils quantifiés et sélectionnés pour l'analyse pouvaient expliquer les notes de typicité attribuées par les dégustateurs. Dans un second temps, nous regarderons si ces composés peuvent expliquer les trois descripteurs aromatiques du bouquet. Le paragraphe suivant abordera cette seconde étape. L'avantage de la méthode PLS est que sur une seule analyse et sur une même cartographie, les relations plus ou moins directes entre les variables explicatives et expliquées peuvent être observées, tout comme le positionnement des individus (ici les échantillons de vins dégustés et analysés).

[…] – Diffusion non autorisée.

La superposition des variables explicatives, des variables expliquées et des vins étudiés est représentée sur le cercle de corrélation de la **Figure 19**.

La Figure 19 n'est pas autorisée à la diffusion. Par conséquent, les résultats et discussions associés ont été supprimés pour cette version de diffusion.

Diffusion non autorisée

Figure 19. Cercle de corrélation issus de la régression PLS appliquée aux composés chimiques dosés (non corrélés avec les âges des vins), à la note moyenne de typicité et aux moyennes des intensités des descripteurs "fruits frais rouges et noirs", "sous-bois" et "truffe" pour les 24 vins rouges de Bordeaux analysés. Les codes des vins soulignés (couleur noire) ont été jugés par le panel de professionnels comme les plus typiques du bouquet de vieillissement. **Diffusion non autorisée.**

3.3.2 Composés responsables des odeurs du bouquet

Tous les composés quantifiés lors de ce travail peuvent participer (de manière directe ou indirecte) ou ne pas participer aux odeurs qui constituent le bouquet de vieillissement. L'étude ciblée de composés permet une approche *a priori* qui, par le biais de corrélations, nous permet d'apprécier le lien entre les composés et un ou plusieurs descripteurs aromatiques. L'analyse PLS (**Figure 19**) positionne les descripteurs « fruits frais rouges et noirs », « sous-bois » et « truffe », puis un test de corrélation entre les variables chimiques et les descripteurs aromatiques a été effectué. Les vins étudiés sont confrontés à la fois aux variables à expliquer (comme la typicité du bouquet) et aux intensités des notes de « fruits », « sous-bois » et « truffe ».

[…] – Diffusion non autorisée.

De plus, la confrontation des concentrations des molécules et des descripteurs du bouquet a permis de mettre en évidence l'implication potentielle de certaines molécules dans le caractère aromatique du bouquet de vieillissement. Le

Tableau 31 présente ces corrélations.

[…] – Diffusion non autorisée.

Le Tableau 31 n'est pas autorisée à la diffusion. Par conséquent, les résultats et discussions associés ont été supprimés pour cette version de diffusion.

Tableau 31. Corrélations entre les teneurs des molécules et les descripteurs du bouquet de vieillissement pour les deux Châteaux étudiés. p-value en gras : * < 0,05 ; ** <0,01 ; *** <0,001. **Diffusion non autorisée.**

Crus	***Molécules***	***Corrélation avec le descripteur***	***Matrice de corrélation***	***p-value***	***R²***
Diffusion non autorisée	**Diffusion non autorisée**				

Il est important de souligner que ce n'est pas généralement l'odeur du composé lui-même qui va générer une odeur en mélange dans les vins. Cela dépend de la concentration du composé dans les vins, de son seuil de perception olfactif et de sa capacité à interagir avec les autres composantes de la matrice. Les résultats obtenus ici montrent que dans le cas de mélanges complexes et des odeurs multiples, les corrélations statistiques ne sont pas suffisantes pour expliquer les liens entre la présence des molécules et les odeurs du mélange. Les comparaisons entre les teneurs et les seuils de perception sont encore moins efficaces pour expliquer les odeurs d'un mélange. Des effets non linéaires entrent possiblement en jeu et la matrice non-volatile pourrait avoir une influence. Des conclusions hâtives pourraient être erronées.

Ces observations rejoignent les nombreuses études réalisées aujourd'hui sur les interactions entre les molécules volatiles. Dans le contexte du vin, produit constitué de nombreux composés volatils, son arôme global est aujourd'hui considéré comme la résultante de nombreuses interactions perceptives. Des récentes études ont par ailleurs mis en évidence des changements de perception de l'odeur lorsque les composés volatils sont mis en mélange (Atanasova et al., 2005b). Dans le contexte des interactions perceptives, il existe deux sortes de composés : *(i)* ceux qui présentent des concentrations au-dessus de leur seuil de perception et qui ont un impact sur la perception olfactive et *(ii)* ceux qui ont des teneurs inférieures à leur seuil de perception mais qui contribuent également à l'expression aromatique d'un vin. C'est le cas de nombreux composés comme la β-damascénone, qui participe au masque du caractère herbacé des vins et augmente le caractère « fruits noirs » des vins rouges ou bien, des esters tels que le propanoate d'éthyle, le 3-hydroxybutanoate d'éthyle, l'acétate de butyle et l'acétate de 2-méthylpropyle qui, malgré leurs teneurs minimes, jouent un rôle dans les nuances « fruits frais » et « fruits noirs » des vins (Pineau et al., 2007; Lytra et al., 2013). Le bouquet de vieillissement semblerait s'articuler autour de nombreuses interactions perceptives et cela avait déjà été souligné par Picard (2015). De plus, la composante « menthe » des vins, serait probablement le fruit de nombreuses interactions entre molécules dont l'ensemble génèrerait une « fraîcheur » amplement appréciée par les dégustateurs.
D'autre part, il est intéressant de noter que le DMS est une molécule particulièrement impliquée dans les interactions perceptives. Aussi bien contributrice des notes de « truffe » lorsque ses concentrations le permettent, elle participe également à augmenter l'intensité des notes « fruitées » des vins (Anocibar Beloqui, 1998; Lytra et al., 2014b; Cameleyre, 2017). Dans notre cas, **[…] – Diffusion non autorisée.**

Pour répondre alors à la première question de ce chapitre, la composition expliquerait dans une moindre mesure les aspects sensoriels des vins. Les interactions perceptives sont au centre de la question mais encore faut-il en savoir plus sur l'identité moléculaire de ces vieux vins.

3.4 Typologie de boisage

Désormais, abordons deuxième objectif de ce chapitre afin d'essayer de voir s'il existe une identité moléculaire propre à chaque cru. Si l'on ne tient compte que du terroir comme premier élément générateur du bouquet de vieillissement, il est nécessaire de dissocier le paramètre « boisage » apporté aux vins lors l'élevage en barrique. Il s'agit d'un itinéraire technique qui est propre à chaque vinificateur. Même si ce caractère boisé est indispensable à l'élaboration des vins de garde cet aspect-là peut, quelque fois, marquer les vins et agir en tant que « masque olfactif » des odeurs caractéristiques du bouquet de vieillissement et notamment les odeurs « fruitées » (Atanasova et al., 2004, 2005b). Il est donc nécessaire de s'affranchir de cette idée afin d'étudier la contribution seule du terroir dans la genèse du bouquet d'un point de vue moléculaire. Pour cela, nous nous devons de vérifier qu'il n'existe pas de typologie de boisage propre à chaque domaine.

Une analyse ascendante hiérarchique (CAH) a été réalisée à partir des teneurs en composés issues du bois de chêne afin de former des groupes au sein des 80 échantillons analysés. Les résultats de cette analyse sont représentés sur la **Figure 20**.

[…] – Diffusion non autorisée.

Puis, une analyse de variance de type ANOVA et l'équivalent non-paramétrique de type Kruskal-Wallis complétée d'une comparaison par paires (Tukey et Steel-Dwass-Critchlow-Fligner) a été effectuée afin de déterminer les composés qui caractériseraient de manière significative les groupes (**Figure 21**).

[…] – Diffusion non autorisée.

Les Figures 20 et 21 ne sont pas autorisées à la diffusion. Par conséquent, les résultats et discussions associés ont été supprimés pour cette version de diffusion.

Pour conclure, malgré l'obtention de 3 groupes distincts basés sur la richesse en composés volatils issus du bois de chêne, nous n'avons pas identifié de typologie de boisage propre à chaque cru. Les différences entre ces derniers ne peuvent donc pas être reliées à ce paramètre. Cela nous permet d'avancer dans l'exploration de notre hypothèse selon laquelle, il existe un lien entre le terroir et l'expression du vin au vieillissement. Ce regard apporté sur le boisage des vins étudiés, nous apprend que celui-ci,

n'influencerait pas la discrimination des crus ni des rives malgré le fait que le boisage est une notion non négligeable dans le cadre de l'étude de ces vins.

Diffusion non autorisée

Figure 20. Classification ascendante hiérarchique (CAH) des composés volatils issus du bois de chêne quantifiés dans les 80 vins rouges. **Diffusion non autorisée.**

Diffusion non autorisée

Figure 21. Concentrations moyennes en composés volatils issus du bois de chêne en fonction des groupes issus de la CAH. Les lettres a, b et c indiquent les différences significatives entre les groupes. Les barres d'erreur indiquent les écart-types d'analyse. **Diffusion non autorisée.**

3.5 Typologies de terroirs

L'hypothèse selon laquelle le terroir conditionne le bouquet de vieillissement a été posée lors des premiers travaux sur le bouquet de vieillissement (Picard, 2015). En effet, d'une part, l'axe sensoriel de cette étude avait prédisposé les éléments de réponse puisque les vins de « rive gauche » étaient liés aux descripteurs « menthe » et « réglisse » du bouquet de vieillissement. D'autre part, des corrélations ont été établies entre la pipéritone et la note de « menthe » du bouquet mais aussi entre les teneurs de ce composé et le pourcentage de cabernet-sauvignon, cépage caractéristique des vins de « rive gauche » (Picard et al., 2016b). De la même manière, le DMS a pu déjà être associé aux descripteurs « truffe » et « sous-bois » du bouquet et retrouvé corrélé à sa typicité (Picard, 2015). D'autres auteurs ont observés que les teneurs en DMS dans les vins dépendraient du cépage (Fedrizzi et al., 2007b). De plus, cette spécificité des composés liés au cépage n'est pas surprenante puisque l'origine variétale des terpènes et des C_{13}-norisoprénoïdes dans les vins a été largement décrite dans la littérature (Strauss et al., 1986; Capone et al., 2011; Antalick et al., 2015; Poitou et al., 2017; Slaghenaufi et al., 2019). Il existerait donc une origine variétale de certaines caractéristiques sensorielles du bouquet de vieillissement.

[…] – Diffusion non autorisée.

La composition des vins étudiés, grâce à la diversité des molécules quantifiées, pourrait nous permettre d'identifier une typologie de crus bien spécifique selon leur origine géographique. Donc, l'objectif de cette partie tentera d'identifier une identité moléculaire pour chaque rive et pour chaque cru. Pour y répondre, les données des molécules dont l'origine provient du raisin ont été utilisées. Les composés issus du bois de chêne n'ont donc pas été pris en compte. Les esters quant à eux, ont été inclus dans l'analyse du fait que leur origine n'est pas totalement exogène. Les sommes des esters des trois familles majoritaires ont été réalisées. Les résultats ont été introduits dans l'analyse comme variable quantitative supplémentaire. Les indications des vins étudiés (rives, code du château) ont été utilisées en tant qu'observations dans l'analyse.

La première approche a été de mettre en commun toutes les données quantitatives et une analyse en composantes principales a été ensuite réalisée, afin de repérer s'il existait une séparation des rives puis des crus au sein des rives. Les résultats sont présentés sur la **Figure 22**. Sur la colonne de gauche se trouvent les cercles de corrélation de l'ACP avec la projection de toutes les variables chimiques étudiées. Sur la colonne de droite se trouve la projection des vins selon les niveaux de catégorisation. Il est intéressant de noter plusieurs points.

[…] – Diffusion non autorisée.

1a)

Diffusion non autorisée

1b)

Diffusion non autorisée

2a)

Diffusion non autorisée

2b)

Diffusion non autorisée

3a)

Diffusion non autorisée

3b)

Diffusion non autorisée

Figure 22. Analyse en composantes principales (ACP) des teneurs des composés volatils dans les 80 vins étudiés. Les graphiques **1a)** et **1b)** différencient les échantillons suivant les rives. Les graphiques **2a)** et **2b)** différencient les crus de la rive droite seulement tandis que les graphiques **3a)** et **3b)** différencient les crus de la rive gauche. Les couleurs correspondantes aux rives et aux Châteaux sont indiqués sur les cartes de répartition. **Diffusion non autorisée.**

Grâce à cette première analyse projective, les molécules quantifiées dans les vins vieux appartenant aux différentes familles chimiques, et qui prendraient naissance dans le raisin, permettraient de différencier d'une part, les rives et d'autres part, les crus de la rive droite et certains crus de la rive gauche. L'hypothèse selon laquelle le terroir conditionne le bouquet de vieillissement est consolidée. Il existerait donc une typologie de terroir révélée au vieillissement par des molécules aromatiques.

Afin de compléter ces observations, une analyse de type ANOVA a été effectuée pour chaque composé dosé afin de chercher s'il existe des différences significatives entre les composés dosés et ainsi, caractériser la composition des vins des deux rives et de chaque cru. Les résultats concernant les rives sont présentés dans le **Tableau 32**.

[…] – Diffusion non autorisée.

Ensuite, le même raisonnement a été suivi à l'échelle des rives, afin de connaître les composés qui sont caractéristiques d'un cru. Les résultats des comparaisons de variances (ANOVA et Kruskal-Wallis) des moyennes de chaque composé quantifié sont décrits dans le **Tableau 33**. Les catégories (lettres) issues des comparaisons par paires de Tukey ou Steel-Dwass-Critchlow-Fligner permettent de renseigner les crus qui se différencient de manière significative. La lettre « A » représente les teneurs les plus élevées et celles en rouge et surlignées en gris signifient que les composés caractérisent le cru, grâce à leurs teneurs significativement plus élevées par rapport aux autres crus de la même rive. D'autre part, les lettres « A » seulement surlignées en gris, permettent de mettre en évidence les composés en abondance majeure dans les Châteaux d'une même appellation.

[…] – Diffusion non autorisée.

La Figure 22 et les Tableaux 32 et 33 ne sont pas autorisés à la diffusion. Par conséquent, les résultats et discussions associés ont été supprimés pour cette version de diffusion.

Tableau 32. Significativité de la différence des teneurs en composés volatils entre les vins des deux rives et visualisation de la rive la plus riche (RD : rive droite, RG : rive gauche). **Diffusion non autorisée.**

	Significativité entre les rives *p-value*	**Rive la plus riche**
DMS	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**
Cyclotène	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**
Composés « menthés »		
Limonène		
1,8-cinéole		
Pipéritone		
Carvone	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**
Menthone		
Menthylacétate		
Neomenthylacétate		
Terpènes		
α-terpinéol		
Terpinèn-1-ol		
Terpinèn-4-ol		
Oxyde de *cis*-linalol		
Oxyde de *trans*-linalol		
1,4-cinéole		
p-cymène	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**
α-terpinène		
γ-terpinène		
α-phellandrène		
Salicylate de méthyle		
Nérolidol		
Bisabolol		
C_{13}-norisoprénoïdes		
β-damascénone		
TPB		
TDN	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**
Vitispirane		
Somme des tabanones		
Esters		
Somme des EEAG		
Somme des AAS	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**
Somme des EEAS		

Tableau 33. Significativité de la différence des teneurs en composés volatils entre les crus au sein des rives. Les lettres de la comparaison par paire (Steel-Dwass-Critchlow-Fligner) indiquent les différences entre les crus. Lettre A rouge et grisée = composés caractérisant le cru. Lettre A grisée = composé caractérisant l'appellation. **Diffusion non autorisée.**

Composés	Rive droite				Rive gauche				
	Cru 1	Cru 2	Cru 3	*Significativité entre crus*	Cru 4	Cru 5	Cru 6	Cru 7	*Significativité entre crus*
DMS	**Diffusion non autorisée**				**Diffusion non autorisée**				
Cyclotène Isophorone	**Diffusion non autorisée**				**Diffusion non autorisée**				
Limonène 1,8-cinéole Pipéritone Carvone Menthone Menthylacétate Néomenthylacétate	**Diffusion non autorisée**				**Diffusion non autorisée**				
α-terpinéol Terpinèn-1-ol Terpinèn-4-ol Oxyde de *cis*-linalol Oxyde de *trans*-linalol 1,4-cinéole p-cymène α-terpinène γ-terpinène α-phellandrène Salicylate de méthyle Nérolidol Bisabolol	**Diffusion non autorisée**				**Diffusion non autorisée**				
β-damascénone TPB TDN Vitispirane Σtabanones	**Diffusion non autorisée**				**Diffusion non autorisée**				
Somme des EEAG Somme des AAS Somme des EEAS	**Diffusion non autorisée**				**Diffusion non autorisée**				

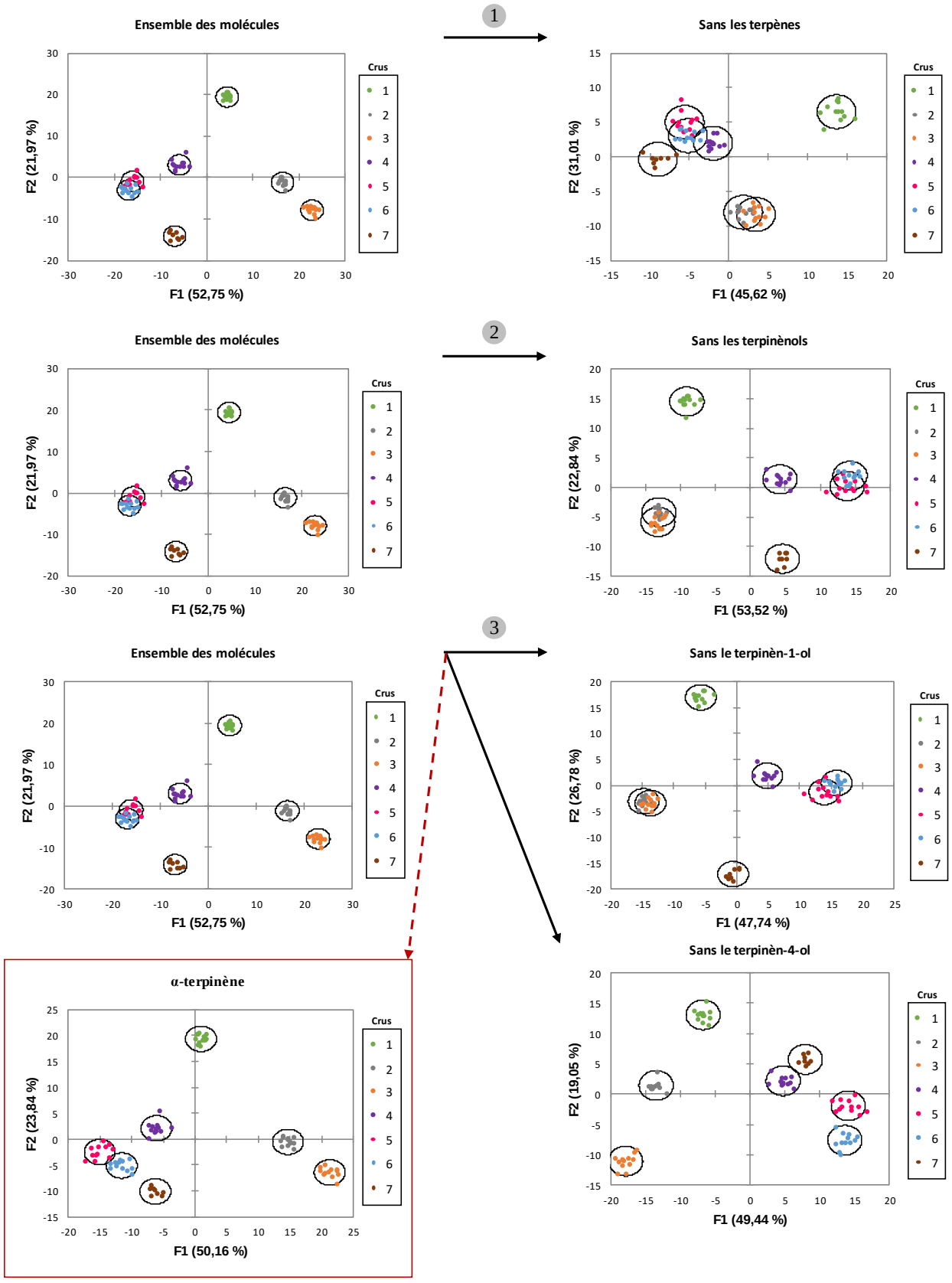


Figure 23. Identification des molécules indispensables à la séparation des rives et des crus. Démarche guidée par l'analyse factorielle discriminante (AFD) réalisée sur teneurs des composés volatils quantifiés dans les 80 vins de l'étude.

Jusqu'à présent, nous avons pu observer que les rives étaient facilement discriminées par les molécules volatiles ciblées dans cette étude. Les familles de composés associées à cette séparation ont été décrites dans le **Tableau 32**. De plus, certaines molécules ont été mises en avant pour être plus abondantes dans certaines « verticales », ce qui induit qu'elles seraient identitaires d'un cru (**Tableau 33**). Désormais, une approche statistique à l'aide de l'analyse factorielle discriminante (AFD) a été réalisée sur l'ensemble des composés de l'étude (y compris les composés du bois) afin d'identifier s'il existe une ou plusieurs molécules qui sont indispensables à la séparation des crus au sein des rives. La stratégie adoptée a été d'éliminer une par une chaque famille de molécules représentées et d'observer si la séparation était dégradée. L'étape suivante a été d'éliminer, au sein d'une famille, chaque molécule afin d'observer la réponse de la discrimination des crus. L'AFD de départ, qui détient l'ensemble des composés, a toujours servi de comparaison afin de nous guider dans cette démarche. Les résultats les plus pertinents sont illustrés sur la **Figure 23**.

- Point de départ

La qualité de séparation est bien modélisée sur l'AFD de l'ensemble des molécules et aucune réattribution des échantillons d'un groupe à un autre n'a été effectuée. En effet, la plupart des crus de l'étude sont séparés. Il existe seulement une confusion entre les crus représentés par les points roses et bleus. Cette observation existait aussi avec l'analyse en composantes principales présentée sur la **Figure 22** (graphiques 3a et 3b). De plus, les crus d'une même rive sont situés du même côté (1, 2 et 3 face à 4, 5, 6 et 7), ce qui démontre à nouveau l'existence d'une séparation des rives. Cette AFD constitue le point de départ de notre démarche et elle est présentée en haut à gauche de la **Figure 23**.

- *Étape 1*

Une AFD a été réalisée lorsqu'une famille de molécules a été retirée de la base de données (les autres composés étaient tous présents). Cela a permis d'identifier l'impact de chaque famille de molécules dans la séparation et de rechercher la/les famille(s) porteuse(s) de l'information discriminante. Les résultats ont montré que les esters, les composés du bois, le cyclotène ne sont pas essentiels dans la séparation des crus (non montrés sur la **Figure 23**). Tout comme les composés du bois, l'analyse des esters seuls (non montré ici) ne permet pas d'identifier de séparation entre les crus. Ensuite, lorsque le DMS est sorti de la base de données, celui-ci induit un rapprochement des crus 4 et 6. Les crus de rive gauche sont donc moins discriminés et seul le cru 7 reste assez séparé. Le DMS aurait alors une importance dans la séparation des crus si bien que sa contribution ne soit pas suffisante à la discrimination globale. Ensuite, lorsque les C_{13}-norisoprénoïdes sont éliminés (non montré sur la **Figure 23**), la qualité de la séparation est dégradée. Il y a surtout rapprochement des crus de rive droite même si leur confusion n'est pas encore visible. Les C_{13}-norisoprénoïdes, au même titre que le DMS, ont alors une petite importance dans la séparation. Ensuite, lorsque l'on enlève les terpènes (y compris les terpènes « menthés »), la qualité de

séparation est complètement dégradée (**Figure 23**, AFD « sans les terpènes », résultat de l'étape 1). Au sein de la rive gauche, il y a confusion des crus 4, 5 et 6 et rapprochement du cru 7 et au sein de la rive droite, les crus 2 et 3 sont complètement confondus jusqu'à se rapprocher « dangereusement » des vins de rive gauche. Lorsque les terpènes « menthés » sont inclus dans la base de données et que les autres terpènes sont toujours absents, l'AFD est identique à celle présentée sur la **Figure 23** (« sans les terpènes »). Les terpènes « menthés » n'auraient alors pas d'impact sur la séparation des crus. De plus, l'AFD réalisée sur les terpènes seuls (non présentée ici) montre qu'aucune discrimination n'est visible entre les crus. Donc cela démontre que cette famille de molécules n'est pas suffisante à elle seule pour séparer les crus tandis qu'avec le support des autres molécules appartenant aux différentes familles, les terpènes sont des molécules discriminantes.

Conclusion de l'étape 1. Les terpènes (autres que les « menthés ») sont indispensables pour permettre la discrimination des crus en présence de l'ensemble des autres molécules (C_{13}-norisprénoïdes, esters, DMS etc.). Il existerait donc des molécules au sein de cette famille qui induisent une discrimination des crus.

- *Étape 2*

L'étape 2 a démarré lorsqu'au sein de la famille des terpènes (autres que les « menthés »), chaque composé a été retiré un par un afin d'identifier les molécules qui impactent sur la séparation. Comme précédemment, à chaque analyse, les autres molécules (autres terpènes et autres familles) étaient gardées. Il s'avère que, l'α-terpinéol, les oxydes de linalol, le salicylate de méthyle, le γ-terpinène, le nérolidol n'ont aucun effet sur la séparation des crus (non montré). Un léger effet est observé pour le 1,4-cinéole et le bisabolol qui, en leur absence, provoque le rapprochement des crus 2 et 3 (non montré). L'α-phellandrène est ambivalent puisque son absence rapproche les crus 2 et 3 mais améliore la séparation des crus 5 et 6 qui, au départ sont quasiment confondus (non montré). Enfin, lorsque les terpinènols (terpinèn-1-ol et terpinèn-4-ol) sont tous les deux retirés, la qualité du modèle est moins bonne, la séparation est dégradée et il y a confusion des crus 2 et 3, ainsi que rapprochement du cru 7 du côté des crus de rive gauche (**Figure 23**, AFD « sans les terpinèn-ols »). Il semblerait donc que les terpinèn-ols aient des effets sur la séparation des crus.

- *Étape 3*

La même démarche a été entreprise en éliminant d'une part le terpinèn-1-ol et d'autre part le terpinen-4-ol. D'une part, l'absence du terpinèn-1-ol dégrade la séparation, si bien que les crus 2 et 3 sont totalement confondus. En revanche, l'absence du terpinèn-4-ol permet, pour la première fois, aux crus 5 et 6 d'être totalement discriminés. Un léger rapprochement entre les crus 4 et 7 intervient mais ces deux crus ne se confondent pas. Les terpinèn-ols sont donc le siège de la séparation des crus (**Figure 23**, résultat étape 3). En parallèle, l'α-terpinène un effet similaire au terpinèn-4-ol. Son absence entraîne

une quasi-séparation totale des crus 5 et 6 et le rapprochement du cru 7 est moins marqué (**Figure 23**, AFD encadrée en rouge).

En conclusion de cette démarche, nous avons identifié que les terpènes sont les molécules responsables de la discrimination des crus et des rives de notre étude. Ensuite, au sein de ces terpènes, le terpinèn-1-ol, le terpinèn-4-ol, l'α-terpinène ont des effets majeurs sur la discrimination des échantillons. Le terpinèn-1-ol est porteur d'une information qui permet la séparation des crus. Les autres composés tels que l'α-phellandrène, le 1,4-cinéole et le bisabolol apportent une légère contribution à la discrimination des échantillons. **Enfin, si cette séparation des crus et des rives intervient, c'est bien grâce à cette famille terpénique mais en présence de toutes les autres familles de composés quantifiés (esters, soufrés, C_{13}-norisoprénoïdes etc.). Les terpènes sont alors support de l'identité des crus mais nécessitent la présence des autres composés pour exprimer cette information.** Ces résultats font évidemment référence à la complexité moléculaire mais aussi sensorielle du bouquet de vieillissement. Celui-ci s'exprimera grâce à un ensemble de molécules et non grâce à une molécule saillante.

Cette mise en lumière des terpènes comme essentiels à l'identité des crus bordelais semble étonnante en raison du peu d'attention portée à ces molécules depuis les 10 dernières années. Mais ces résultats, rejoignent des études récentes qui ont montré que des composés terpéniques et des C_{13}-norisoprénoïdes seraient impliqués dans la segmentation de zones parcellaires d'un vignoble de la région de Valpolicella (Slaghenaufi et al., 2019). La séparation des parcelles était plus distincte lorsque les vins étaient jeunes et la finesse de séparation s'estompait au vieillissement, comme s'il se passait un phénomène de convergence chimique. L'âge joue également beaucoup dans l'identité moléculaire des vins. En effet, les travaux de thèse de Gougeon (2019) ont permis de montrer qu'une distinction des vins des appellations du Libournais et du Médoc était possible sur la base de la matrice non volatile du vin. Mais, cette distinction était facilitée lorsque les vins étaient jeunes (Gougeon et al., 2019).
On s'est alors ensuite demandé si les molécules étudiées ici discriminent déjà les crus dans les 10 premières années de vieillissement (millésimes de 2000 à 2007) ou s'il existe une dynamique particulière des composés au-delà de ces 10 années. Une analyse statistique (ACP puis ANOVA) a été réalisée seulement sur les vins les plus jeunes de la série (de 11 à 18 ans). Les résultats (non montrés ici) montrent que la plupart des composés discriminants sur l'ensemble des échantillons sont déjà discriminants dès les 10 premières années et ce pour les crus des deux rives. En revanche, pour d'autres composés deux dynamiques existent.

- **Une convergence des teneurs au vieillissement** : il existe une différence significative des teneurs entre les crus pour les vins jeunes et cette différence ne se retrouve plus sur des vins plus âgés. C'est le cas de la menthone, du limonène, de l'oxyde de *trans*-linalol et du *p*-cymene

pour les vins des crus de rive droite, et de l'oxyde de *cis*-linalol, de la β-damascénone et de la menthone pour les vins des crus de rive gauche.

- **Une différenciation des crus au vieillissement** : il s'agit du cas inverse. Les teneurs des composés ne sont pas jugées significativement différentes entre les crus sur les vins jeunes mais au vieillissement, il se produit une séparation grâce aux différences de teneurs des composés. C'est le cas de la pipéritone et des acétates d'alcools supérieurs pour les vins de rive droite et du cyclotène, des esters éthyliques d'acides gras et des acétates d'alcools supérieurs pour les vins de rive gauche.

Quoi qu'il en soit, ce qu'il faut retenir de cette démarche est que des molécules issues du métabolisme végétal sont déterminantes dans l'expression de l'identité des vins vieux. Le terroir est bien déterminant dans la personnalité des vins malgré le passage des années.

4. CONCLUSIONS

Dans un premier temps, plus de 80 molécules ont été ciblées pour l'analyse de la composition de 80 vieux vins rouges de la région de Bordeaux. Pour la plupart des composés quantifiés ces derniers sont stables après 10 ans de vieillissement. Ces molécules ont constitué le cœur du travail lorsque les données sensorielles et chimiques ont été mises en commun. La confrontation des données sensorielles et des résultats de quantification souligne l'importance des interactions perceptives. Les approches classiques visant à relier ces données par des stratégies de corrélation simples ne semblent pas suffisantes. Le bouquet de vieillissement s'articulerait autour d'interactions perceptives dont la plupart mériteraient d'être mises en évidence par le biais d'études supplémentaires.

Dans un second temps, la composition des vins vieux issus de différents crus de Bordeaux nous permet de discriminer les vins. Cette discrimination est surtout possible grâce aux composés dont l'origine est le raisin (molécules terpéniques). L'importance de l'origine des raisins sur l'identité des vins vieux a été confirmée et démontrée. La diversité des terroirs Bordelais et l'implantation des cépages sur les différents types de sol impliquent que la composition des vins est quelque peu contrastée. Notre étude nous permet de spécifier que le terroir par le biais du sol, matériel végétal, conditions climatiques et bien d'autres facteurs conditionnent bien le vieillissement qualitatif des vins rouges de Bordeaux. Ainsi, la composition moléculaire résultante nous permet d'identifier une typologie de rives et de crus. De plus, l'évolution des vins en bouteille peut engendrer deux dynamiques. La première est que certains composés vont voir leurs teneurs se distinguer au sein des crus lors du vieillissement, tandis que d'autres composés vont plutôt évoluer vers une dynamique de convergence. Or, ces deux dynamiques ne sont pas nécessairement liées à la dégradation ou bien la formation d'une molécule lorsque le vin se garde

en bouteille. Le vieillissement du vin est avant tout le résultat d'un millésime révélé par le passage du temps.

L'étude des liens entre les paramètres du terroir et les teneurs en composés au vieillissement mérite d'être entamée afin d'affiner la connaissance sur la genèse du bouquet de vieillissement. C'est au cours de la partie 2 de cette thèse que ces éléments vont être discutés.

Conclusion générale partie 1

Le vieillissement qualitatif des vins

***

Cette première partie nous a permis de faire un état des lieux de la composition aromatique et chimique des 80 vins issus de 7 crus de la région bordelaise dont les vins sont connus pour leur fort potentiel de garde. Ces premiers résultats constituent le point de départ de notre travail afin de pouvoir répondre à la question de base de ce projet.

L'analyse sensorielle des verticales de vieux vins issus de différents crus de la région bordelaise nous a permis, dans un premier temps, de sélectionner des vins pour lesquels le panel de dégustation a jugé qu'ils présentaient un bouquet de vieillissement. La typicité du bouquet de vieillissement suit un gradient d'exemplarité allant de mauvais exemples à bons exemples. Ensuite, les dégustateurs étaient d'accord sur le jugement des intensités de descripteurs « fruits frais rouges et noirs », « sous-bois » et « truffe » dans certains vins. Ce premier travail de tri nous a permis de définir que les vins qui présentaient un bouquet, avaient des odeurs de « sous-bois » et « truffe » plus intenses. Enfin, cette première étape sensorielle avec les quelques informations récoltées ne nous a pas permis de définir les caractéristiques aromatiques des crus étudiés, afin d'affiner la définition du bouquet de vieillissement au regard des différentes spécificités liées au terroir.

L'analyse chimique des verticales de vieux vins nous a permis, dans un premier temps, de réaliser des dosages ciblés potentiellement impliqués dans le bouquet de vieillissement. Les teneurs des composés ont été confrontés aux données descriptives sensorielles et il semblerait que, dans notre étude, la typicité ainsi que les odeurs du bouquet de vieillissement soient le résultats d'interactions perceptives entre les composés analysés. Même si le bouquet de vieillissement s'exprime après quelques années en bouteille, celui-ci n'est pas forcément lié à l'âge des vins puisque les composés retrouvés ne sont pas plus abondants dans les vins les plus âgés. Dans un second temps, grâce à la composition moléculaire, nous sommes capables d'obtenir une identité moléculaire des rives et même de certains crus au sein des rives. Les composés étudiés et notamment les composés terpéniques tels que le terpinèn-1-ol et l'α-terpinène sont essentiels pour la différenciation des crus.

Le **Schéma bilan 1** synthétise les principaux résultats de la partie 1 et propose des perspectives pour la suite de ce travail. Ces résultats ont démontré et affiné l'observation empirique que le terroir conditionne le bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux. Désormais, cela nous incite à définir les paramètres qui influent sur la génèse du bouquet de vieillissement.

Comment les vins rouges de Bordeaux se différencient au vieillissement d'un point de vue sensoriel et moléculaire ?

« verticales » de 7 crus - 11 à 28 ans

Analyse sensorielle

Analyse chimique

- Jugement de typicité panel-dépendant et matrice dépendante
- Gradient de typicité obtenu
- Sélection de 4 « verticales » avec des vins jugés « typiques » et « non -typiques » du bouquet

- 3 descripteurs du bouquet jugés de manière consensuelle
- Descripteurs « truffe » et « sous-bois » plus intenses dans les « bons exemples » du bouquet
- Caractère « fruité » nécessaire mais pas suffisant à la discrimination des exemples du bouquet

➢ **Pas de caractérisation sensorielle aromatiques des rives, ni des crus de l'étude au vieillissement**

- Analyse ciblée et quantification de plus de 80 molécules dans les vieux vins

- Pour la plupart, stabilité après 10 ans de vieillissement et sélection de ces molécules non corrélées à l'âge des vins
- De nombreuses molécules impliquées dans la typicité du bouquet et ses odeurs. Importance des interactions perceptives

- Composition des vins vieux permet de discriminer les vins Discrimination grâce aux composés terpéniques (terpinèn-1-ol et l'α-terpinène) en présence des autres molécules des vins vieux (C_{13}-norisoprénoïdes, esters, DMS)
- Discrimination et caractérisation des rives et des crus par les composés volatils

➢ **Importance de l'origine des raisins sur l'identité des vins au vieillissement. Le terroir conditionne le bouquet de vieillissement**

PERSPECTIVES

Caractérisation des sous-espace bordelais par le bouquet ou convergence sensorielle au vieillissement ?

Mettre en évidence des interactions perceptives au sein du bouquet de vieillissement.

Étude d'autres vins à caractère qualitatif moins confirmé (seconds vins par exemple) pour voir l'importance du terroir dans la discrimination des vins.

Schéma bilan 1. Principales conclusions et perspectives envisagées à la suite de l'étude sensorielle et chimique des vieux rouges de Bordeaux âgés de 11 à 28 ans.

Deuxième partie

***

NAISSANCE ET CONSERVATION DES MOLÉCULES FAISANT PARTIE DU BOUQUET DE VIEILLISSEMENT : CONTRIBUTIONS DU TERROIR ET DU MILLÉSIME

Chapitre 1. État de l'art : l'effet du terroir sur les composés odorants des vins

L'expression aromatique des vins est intimement influencée par les paramètres viticoles comme le cépage, les techniques de gestion du vignoble et les facteurs environnementaux comme le sol et le climat (Jackson and Lombard, 1993). « L'effet terroir » est un concept répandu et étudié en agriculture. Il intègre les caractères d'un vin aux les conditions environnementales où les raisins sont cultivés (Van Leeuwen and Seguin, 2006). La vigne interagit à la fois avec le sol et le climat. Ces deux paramètres sont liés car le sol influence le développement de la vigne et la maturation des raisins grâce à la température de l'air, du sol et de sa disponibilité en eau et en minéraux (Jones and Davis, 2000; Deloire et al., 2005; Van Leeuwen, 2010; Van Leeuwen et al., 2018). Il faut toutefois garder en tête le fait que l'empirisme a conduit les viticulteurs à adapter leurs conditions de production et les espèces végétales aux contraintes géographiques et climatiques d'un lieu. D'autre part, dans le cas des plantes pérennes telles que la vigne, ces paramètres sont « millésime-dépendants ». En effet, la variabilité du climat va influencer les paramètres présentés ci-dessus et ainsi moduler l'expression d'un sol et d'un complant. Tous ces facteurs étant liés entre eux, les travaux de Van Leeuwen et al. (2004), ont pu définir une hiérarchie des influences des paramètres tels que le sol, le cépage et le climat sur le développement de la vigne, sa phénologie et la composition du raisin. D'après ces travaux, l'acidité des baies serait affectée en premier lieu par le climat ; les sucres par le cépage et le sol ; l'azote des baies par le sol. Les paramètres de réserve hydrique seront davantage affectés par le climat et le type de sol. En résumé, le sol et le climat déterminent l'approvisionnement en eau et en azote de la vigne qui, à son tour, module son développement végétatif et reproducteur (Van Leeuwen et al., 2018).
Donc, pour produire des raisins à haut potentiel œnologique, la culture de la vigne est menée avec certaines contraintes qui permettent de limiter la vigueur et le rendement. L'alimentation en eau et en azote sont les deux leviers fondamentaux à la production de raisins et de vins de qualité (Van Leeuwen et al., 2008).

1. INFLUENCE DU STATUT HYDRIQUE

1.1 Le statut hydrique

Le statut hydrique reflète en quelque sorte la capacité de la vigne à trouver un équilibre entre les apports et les pertes en eau. Cette eau est utilisée pour le développement végétatif et reproducteur de la plante. Sa disponibilité dans le sol dépend de nombreux facteurs tels que les paramètres climatiques

(précipitations et chaleur), la capacité du sol à stocker l'eau, le taux de transpiration de la vigne et la profondeur d'enracinement (Van Leeuwen et al., 2018). Le volume total occupé par l'eau dans le sol dépend de sa texture et de l'hydrophilie des composants minéraux (Van leeuwen et al., 2004). Par exemple, les sols limoneux accepteront plus d'eau que les sols sableux. La texture a un impact majeur sur la capacité de rétention de l'eau, elle dépend également de la profondeur d'enracinement et du pourcentage d'éléments grossiers (Van Leeuwen et al., 2009, 2018). D'autre part, la demande en eau de la plante est étroitement dépendante de la dimension du couvert végétal, des caractéristiques du cépage utilisé, du porte-greffe, de la couverture du sol et de la pression d'évaporation (Van Leeuwen et al., 2008).

1.2 Mesure du statut hydrique

Il existe de nombreuses méthodes pour évaluer le régime hydrique de la vigne. Les plus anciennes se basent sur la mesure de la quantité d'eau dans le sol (gravimétrie) ou de sa disponibilité pour la plante (tensiométrie). Il existe également des mesures réalisées sur les divers éléments de la plante telles que le potentiel foliaire, le potentiel tige, le diamètre des organes, le débit de sève et la transpiration. Ces mesures sont des « indicateurs physiologiques » (Van Leeuwen et al., 2000a; Choné et al., 2001a; Gaudillère et al., 2001). Ces différentes techniques ont chacune leurs limites. Pour certaines, l'équipement est difficile à mettre en œuvre. Pour d'autres, soit elles ne mesurent pas réellement les déficits hydriques subis par la vigne ou soit elles devraient extrapoler les mesures sur toute une saison pour être fiables. Aujourd'hui, il existe une grandeur facilement mesurable sur un grand nombre d'échantillons qui permet d'évaluer de façon globale les conditions d'alimentation en eau de la vigne au cours de la saison. Il s'agit de la mesure du rapport isotopique $^{13}C/^{12}C$ appelé $^{13}\delta C$ (Gaudillère et al., 2002). L'atmosphère contient 98,9% de ^{12}C et 1,1% de ^{13}C. Les plantes incorporent plus facilement le ^{12}C pendant leur photosynthèse, ce qui conduit à une discrimination isotopique. Lorsque la contrainte hydrique entraîne la fermeture des stomates, les échanges de CO_2 entre la feuille et l'atmosphère sont ralentis et la discrimination isotopique est réduite. Le $^{13}\delta C$ est donc la signature de l'intensité du déficit hydrique pendant la période de maturation. Pour un millésime défini, il peut marquer des différences comportement hydrique des sols (Gaudillère et al., 2001; Deloire et al., 2005). Il a également été montré que le $^{13}\delta C$ mesuré dans les sucres des raisins à maturité était corrélé au $^{13}\delta C$ mesuré dans l'éthanol des vins issus de ces mêmes raisins (Roßmann et al., 1996). De ce fait, une méthode par spectrométrie de masse couplée à un analyseur élémentaire a été développée pour mesurer le $^{13}\delta C$ dans l'éthanol (Guyon et al., 2015). En termes de chiffres, les valeurs du $^{13}\delta C$ s'expriment en valeurs négatives et elles sont d'autant plus proches de 0, que le déficit hydrique est prononcé. Cette technique de mesure du $^{13}\delta C$ a récemment été utilisée par Picard et al. (2017b), dans des vieux vins rouges de Bordeaux afin de rechercher un lien entre le statut hydrique et l'expression de la typicité ou de quelques notes aromatiques

du bouquet de vieillissement. Cette méthodologie nous semble intéressante à appliquer sur des « verticales » de vieux vins. Cet outil est l'un des rares disponible pour avoir des informations sur le statut des vignes dans le passé par l'observation du vin vieux.

1.3 Influence du statut hydrique sur la phénologie de la vigne et la qualité des raisins

Le statut hydrique a un effet majeur sur le développement de la vigne (végétatif ou reproducteur), sur la composition du fruit et finalement sur la qualité du vin. L'apparition d'une contrainte hydrique modifie le fonctionnement physiologique de la vigne par la fermeture des stomates pendant une partie de la journée. Cette régulation stomatique limite la photosynthèse. De plus, la réduction de l'alimentation en eau favorise l'arrêt de croissance de la vigne et lorsque celle-ci intervient avant la véraison, cela limite le grossissement des baies (Van leeuwen et al., 2004). Ainsi, les extrémités des racines dans un sol en cours d'assèchement vont produire de l'acide abscissique, hormone favorable à la maturation du raisin (Deytieux-Belleau et al., 2007). L'établissement d'une contrainte hydrique limite la compétition pour les substances carbonées puisque les apex des rameaux ne sont plus en croissance, les baies sont moins volumineuses et cela compense les effets d'une photosynthèse réduite (Tregoat et al., 2008; Van Leeuwen et al., 2008). De plus, la maturation des raisins sera modulée par la contrainte hydrique. En effet, la précocité du cycle phénologique dépend essentiellement de la température du sol qui est en relation avec sa teneur en eau. Le régime hydrique de la vigne conditionne donc la vitesse de maturation (Morlat, 1989; Van Leeuwen and Seguin, 1994). Un déficit hydrique sera favorable à une maturation rapide et son effet sur la précocité de la vigne sera même plus important que la température du sol (Van Leeuwen, 2001). Les métabolites secondaires du raisin tels que les polyphénols, les arômes et leurs précurseurs sont aussi largement impactés par le statut hydrique de la vigne (Van Leeuwen et al., 2018). Un statut hydrique limitant permettra aux baies de s'enrichir en tanins et anthocyanes qui sont des métabolites importants pour la qualité œnologique des raisins rouges (Van Leeuwen and Seguin, 1994; Ojeda et al., 2002; Tregoat et al., 2002; Ollé et al., 2011). Un régime hydrique limitant induit généralement des effets bénéfiques sur la qualité des vins rouges produits. Dans ce cas, il s'agira de « contrainte hydrique » et non de « stress hydrique » qui peut conduire, dans les conditions extrêmes, à un blocage de maturité et une perte de qualité des raisins. Il a été montré que les grands vins rouges à Bordeaux sont souvent produits sur des parcelles qui ont eu un apport en eau limitant (Van Leeuwen et al., 2009).

Actuellement, le changement climatique est au centre des réflexions. Il est essentiel de comprendre précisément la réponse de la vigne à la nouvelle donne climatique pour espérer une production de raisins à haut potentiel œnologique et de vins typiques à fort potentiel de garde. En effet, le changement climatique a un effet majeur sur la viticulture mondiale par ses effets sur l'avancée des stades

phénoliques, ses impacts sur le développement des raisins et leur maturation, ses influences sur l'action des ravageurs et des maladies ainsi que ses effets importants sur la culture des cépages actuels dans les aires d'appellations d'origine sans altérer leur typicité (Ollat and Touzard, 2014; Ollat et al., 2017). À Bordeaux, le changement climatique a fait que, depuis quelques années, la température pendant la période de maturation des raisins a largement augmenté et les précipitations ont diminué. Cela induit des conditions de sécheresse plus prononcées (Van Leeuwen et al., 2019). Tous ces effets ont et auront un impact sur la qualité des baies, ainsi que sur la composition aromatique des raisins et des vins (Pons et al., 2017). La modification du potentiel de garde et de l'identité du bouquet de vieillissement des vins peut-être la conséquence finale de ces changements environnementaux. Il nous a paru important de garder ces points à l'esprit dans le cadre de ce projet. C'est pourquoi, nous avons voulu comprendre plus précisément, et à diverses échelles, l'effet du statut hydrique sur la composition aromatique des vins vieux et sur les précurseurs des molécules du bouquet.

2. INFLUENCE DU STATUT AZOTÉ

2.1 Définition du statut azoté

Parmi les éléments que la vigne prélève dans le sol, l'azote est celui qui influence le plus fortement son développement végétatif et reproducteur. La très grande majorité de l'azote stocké dans le sol. C'est sous forme organique et non accessible directement par la vigne. La matière organique est minéralisée par la flore microbienne du sol et cette minéralisation va libérer de l'azote minéral (NH_4^+ oxydé ensuite en NO_3^-). C'est à ce moment-là que la vigne va absorber cette forme d'azote. Ce processus de minéralisation est complexe et sa vitesse dépend de nombreux facteurs tels que l'abondance de la microflore du sol, le rapport C/N de la matière organique liée à la richesse en azote, la température du sol, son aération, sa teneur en eau et son pH (Van Leeuwen and Friant, 2011; Van Leeuwen et al., 2000b).

La disponibilité de l'azote pour la vigne dépend également du type de sol, des paramètres liés à celui-ci (teneur en matière organique, rapport C/N de la matière organique) aussi bien que le « microbiome » du sol qui est capable de transformer l'azote organique et gérer la vitesse de minéralisation. En résumé, le statut azoté de la vigne regroupe à la fois l'azote disponible dans le sol et l'azote qui est apte d'être absorbé par la plante. L'absorption de l'azote par la vigne est une des composantes majeures de l'effet terroir (Van Leeuwen et al., 2000b). Nous porterons une attention particulière à ce paramètre.

2.2 Composition et mesure du statut azoté

La nutrition azotée peut-être raisonnée soit à partir d'analyses de sol, soit à partir d'analyses réalisées sur la vigne (organes ou jus). L'analyse de l'azote total du sol comme indicateur du statut azoté de la vigne peut être limité en raison de la difficulté à extrapoler la nutrition azotée de la vigne à partir de l'azote du sol, car le facteur de minéralisation va jouer un rôle important (Van Leeuwen and Friant, 2011).

Les analyses de l'azote du moût sont plus couramment effectuées à maturité et donnent une indication à la fois sur le statut azoté de la vigne et sur la fermentescibilité du moût. La présence d'azote dans les moûts va influencer la croissance des levures, leur métabolisme et permettre la transformation de composés aromatiques à partir de précurseurs non volatils dans la baie. L'azote minéral ou ammonium (NH_4^+) est une composante importante de l'azote assimilable et l'une des sources d'azote facilement assimilable par la levure. Les concentrations en ammonium diminuent au cours de la phase de maturation du raisin et les teneurs sur les moûts à maturité varient de manière importante entre les cépages (Bell and Henschke, 2005). L'azote organique, composé des acides aminés, est la deuxième partie de l'azote dit assimilable. Les acides aminés généralement quantifiés dans les jus sont une vingtaine et leurs teneurs sont très hétérogènes d'un jus à l'autre (Pripis-Nicolau et al., 2001). Généralement, l'arginine, la glutamine et la proline sont les acides aminés majoritaires mais seule la proline n'est pas métabolisée par la levure. De plus, leurs teneurs individuelles varient également fortement en fonction du cépage, du porte-greffe, du sol, des conditions climatiques et du stade de maturité. Contrairement à l'ammonium, la concentration en acides aminés augmente au cours de la maturation du raisin et la portion des acides aminés dans l'azote assimilable peut atteindre deux tiers (Bell and Henschke, 2005). Au cours de la fermentation alcoolique, ils sont utilisés par les levures et le profil d'acides aminés dans les vins est complètement modifié et déconnecté de celui des jus. Les teneurs dépendront aussi des souches de levures utilisées pour réaliser la fermentation alcoolique ainsi que du contact avec les lies de levures.

La teneur en azote assimilable dans les moûts est un indicateur robuste et facile à mesurer. Il peut renseigner sur le statut azoté de la vigne. La mesure de cet indicateur sur un nombre suffisant d'échantillons peut permettre de spatialiser le statut azoté de la vigne à l'échelle du vignoble (Van Leeuwen and Friant, 2011). De nombreuses méthodes sont proposées aujourd'hui pour doser l'azote assimilable et les différentes formes d'azote qui le constituent. Par exemple, les acides aminés libres peuvent être dosés par dérivation de l'azote α-aminé puis quantifiés globalement par des méthodes de spectrophotométrie UV ou bien séparément par HPLC couplée à la spectrophotométrie UV ou à la fluorimétrie. L'azote assimilable est également dosé par titration en présence de formol mais aussi récemment, par méthode enzymatique pour plus de rapidité (Bell and Henschke, 2005; Casalta et al., 2013).

Comme l'azote assimilable du moût est influencé à la fois par le type de sol, le cépage et le rendement, il est difficile d'établir des valeurs repères (Van Leeuwen et al., 2000b). Plusieurs auteurs ont constaté que des teneurs minimum de 130-140 mg/L en azote assimilable permettraient une fermentescibilité correcte des moûts (Van Leeuwen et al., 2000b; Bell and Henschke, 2005), mais cela doit être raisonné au regard des teneurs en sucres des jus. De plus, le recours à l'ajustement des teneurs en azote des moûts par des sels d'ammonium (DAP) est une solution pour permettre une conduite totale des fermentations. Cette solution est très employée par les vinificateurs. La mesure de l'azote assimilable a récemment été utilisée pour l'étude de l'effet de l'alimentation de la vigne sur le potentiel œnologique du raisin et sur les arômes des vins (Le Menn et al., 2019). Les récentes études à ce sujet seront davantage détaillées dans le paragraphe 3.2.2 (Chapitre 1 – paragraphe 3.2.2 – page 137).

2.3 Influence des paramètres viticoles sur le statut azoté des vignes et effet sur la qualité des baies

Le niveau d'azote influence en partie la vigueur de la vigne, le rendement, la taille des baies et impacte les métabolites primaires (sucres, acides organiques) et secondaires des raisins (composés phénoliques, arômes et précurseurs d'arômes). Le statut azoté de la vigne peut être modulé grâce à différentes pratiques culturales telles que la culture d'un couvert végétal ou la fertilisation (Van Leeuwen et al., 2018).

Tout d'abord, le statut azoté des vignes dépend essentiellement du type de sol car c'est lui qui aura le réservoir d'azote disponible sous forme de matière organique et qui va engager le processus de minéralisation. Des études de terroir menées dans l'AOC Saint-Julien ont montré qu'un sol riche en matière organique associé à une bonne activité minéralisatrice, pouvait permettre à la vigne de disposer d'une bonne alimentation en azote. Cette bonne alimentation se reflète ensuite sur la vigueur de la vigne, la taille des baies ou les teneurs d'azote assimilable des moûts (Van Leeuwen et al., 2000b; Choné et al., 2001b). Par ailleurs, une autre étude dans l'AOC Saint-Émilion a montré qu'un sol argileux, froid, compact et mal aéré était très riche en matière organique mais possédait une faible activité microbiologique. Par conséquent, les quantités d'azote minéral libérées était faibles pour la vigne. À l'inverse, un sol graveleux géographiquement proche possédait une forte activité minéralisatrice et les teneurs en azote dans les parties végétales de la vigne étaient élevées (Van Leeuwen and Friant, 2011). Cependant, la nutrition azotée varie en fonction du sol mais également en fonction du millésime car les conditions du printemps influencent la vitesse de minéralisation de la matière organique. Néanmoins, l'effet du sol serait plus important que l'effet millésime ou que l'effet du cépage sur le statut azoté de la vigne (Van Leeuwen and Friant, 2011).

Ensuite, l'humain oriente l'expression du terroir au travers du choix du matériel végétal et de la gestion des pratiques au vignoble. Il a la possibilité de gérer l'expression du terroir, notamment en influençant

les teneurs en azote (Van Leeuwen et al. 2016). Le choix de son matériel végétal, la gestion de la taille, du feuillage, de la fertilisation, le recours aux techniques d'effeuillage et d'échardage et la mise en place d'un couvert végétal sont différentes techniques viticoles qui peuvent affecter le statut azoté de la vigne en fonction du style de vin que le vigneron souhaite produire (Habran et al., 2016).

Pour la production de vins rouges de garde, un statut azoté « modérément faible » serait plutôt un atout. Il limite la vigueur de la vigne, donc le rendement avec une diminution de la taille des baies, les quantités d'acide malique et la sensibilité à *Botrytis cinerea*. Cette limitation optimise la teneur en sucres réducteurs et en composés phénoliques (Tregoat et al., 2002; Choné et al., 2001b). Dans les vignobles de crus, où la qualité est l'objectif premier, la recherche d'un équilibre du statut azoté dans la plante vers des tendances plutôt faibles est effectuée. Cependant, nous pouvons regretter que les connaissances sur les équilibres entre les teneurs en azote minéral et organique et leurs effets sur la composante aromatique soient faibles. Nous allons tenter d'apporter des connaissances supplémentaires, lors de ce travail de thèse, afin d'améliorer la compréhension des effets de la composante azotée sur la genèse des molécules du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux.

3. IMPACT DU TERROIR SUR LES COMPOSÉS VOLATILS

3.1 Les composés volatils en lien avec les paramètres du terroir

Depuis le début des années 1980 et l'installation de la chromatographie dans le domaine de l'œnologie scientifique, des progrès ont été réalisés pour identifier les molécules responsables des arômes et défauts des vins. Aujourd'hui, de nombreuses études portent sur l'impact du terroir sur les arômes des vins. Les facteurs environnementaux tels que la température, le rayonnement, le statut hydrique et azoté de la vigne font l'objet de travaux en lien avec les molécules responsables de l'expression aromatique des vins.

Par exemple, des études ont montré que les teneurs de la rotundone, composé responsable des nuances « poivrées » dans les vins de syrah, seraient plus élevées dans des vins issus de millésime froids et humides. La présence de ce composé est corrélée à l'absence de déficit hydrique et ses teneurs augmentent lorsque les vignobles sont irrigués (Scarlett et al., 2014; Zhang et al., 2015; Geffroy et al., 2016). De plus, une température trop élevée (25°C) pendant la période de maturation aurait également un effet négatif sur les teneurs en rotundone (Zhang et al., 2015). En revanche, un ensoleillement entre la véraison et la récolte stimulerait sa synthèse (Geffroy et al., 2019). De plus, de manière générale les raisins exposés à la lumière et aux températures élevées auraient des teneurs en C_{13}-norisoprénoïdes et en monoterpènes plus élevées, ce qui est le cas du TDN et du linalol par exemple (Marais et al., 1992;

Kwasniewski et al., 2010; Schüttler, 2012; Schüttler et al., 2013). À l'inverse, ces conditions d'exposition à la lumière diminueraient les teneurs en méthoxypyrazines (Falcão et al., 2007). En revanche, des millésimes trop chauds et secs pourraient entraîner l'augmentation des teneurs en lactones comme le furanéol, la γ-nonalactone, la massoïalactone responsables des odeurs de « fruits cuits » dans les vins (Pons et al., 2017). Enfin, l'impact des statuts hydrique et azoté des vignes a été étudié dans le cas des thiols volatils. Il s'avère qu'un léger déficit hydrique aurait un effet positif sur la synthèse des thiols dans le sauvignon blanc et le riesling (Peyrot des gachons et al., 2005; Schüttler et al., 2013). De plus, les thiols, leurs précurseurs et le glutathion sont plus abondants lorsque le statut azoté de la vigne est élevé (Peyrot des gachons et al., 2005; Choné et al., 2006; Helwi et al., 2016). Le statut hydrique et azoté étant liés, des travaux ont montré que les teneurs précurseur du DMS étaient majorées dans des moûts rouges avec une teneur en azote assimilable élevée issus de vignes ayant subi une contrainte hydrique (de Royer Dupré et al., 2014).
Les spécificités du terroir bordelais pourraient s'avérer importantes pour moduler les teneurs des molécules du bouquet de vieillissement. Il convient donc de travailler en ce sens.

3.2 Le terroir bordelais

3.2.1 Sols, cépages et climat de Bordeaux

Les vignes de la région viticole bordelaise sont travaillées sans recours à l'irrigation, ce qui rend les facteurs climatiques prédominants pour la réussite d'un millésime. Les sols constituent les réservoirs d'eau et d'azote pour la vigne, ce qui va lui permettre de se développer. Mais l'épuisement de ces derniers l'aidera à mener la plupart de ses raisins à maturation.
La mosaïque des sols viticoles et la pluralité des cépages de Bordeaux sont connus de manière empirique mais ce sont dans les années 2000, que des études de terroir ont été menées par Renouf et al. (2010) afin de construire des cartes de sols du vignoble bordelais. Ces travaux ont identifié le type de sol, le cépage, le porte-greffe et les rendements pour chaque parcelle de 7 domaines partenaires. Un indice de qualité sur 5 millésimes a été conçu en fonction de la destination de la parcelle dans la hiérarchie des vins (1er vin, 2nd vin etc.). Les résultats proposent 9 catégories de sols différentes. Le sol majoritaire était un sol graveleux (peyrosol), suivi des sols argileux (planosol) et sablo-graveleux (brunisol). Les indices de qualité étaient les plus élevés sur ces sols ainsi que les sols sableux (arenosol) et dans un second temps, les sols argilo-calcaire (peu représentés dans cette étude). Il s'avère que ces parcelles devaient entrer dans la composition des premiers vins. Les sols qui possèdent une nappe phréatique temporaire ou permanente (rédoxisol et réductisol) ne permettent pas d'obtenir des raisins de qualité en raison de l'absence d'installation de contrainte hydrique (qui est un facteur clé pour obtenir le meilleur potentiel œnologique des raisins) (Van Leeuwen et al., 2009).

Ensuite, l'étude a montré que l'encépagement de la région était principalement représenté par le cabernet-sauvignon et le merlot suivi du cabernet franc et du petit verdot. Leur expression est différente en fonction des sols et certaines associations sols-cépage sont idéales pour garantir la meilleure qualité (Renouf et al., 2010). D'autre part, la technique d'assemblage communément réalisée à Bordeaux, permet de réunir dans un même mélange, les qualités tanniques et aromatiques des vins pour obtenir un produit représentatif d'une exploitation ou tout du moins de son expression dans le millésime.

3.2.2 Impact des paramètres du terroir bordelais sur le bouquet de vieillissement

Le concept de « terroir » a bien été désigné dans la conceptualisation du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux (Picard et al., 2015a). De plus, l'intensité des nuances « menthées » dans les vieux vins étaient ressenties de manière différente entre les différentes régions viticoles bordelaises. Les teneurs en pipéritone, possiblement liées aux nuances « menthées » étaient plus importantes dans des vins de la rive gauche de la Gironde, élaborés en majorité avec du cabernet-sauvignon. Un lien entre les teneurs et les pourcentages de cabernet-sauvignon dans les assemblages permet de supposer un effet variétal de ce composé et des dérivés issus de la même voie biochimique de formation (Picard et al., 2016b, 2017a). De plus, les travaux de Picard ont pu démontrer que, pour des vins qui ont déjà eu une évolution de 10 ans, l'âge des vins n'était pas corrélé aux notes de typicité du bouquet de vieillissement, mais qu'il existait plutôt un effet millésime prépondérant (Picard et al., 2015b). Comme décrit précédemment, la qualité d'un millésime est déterminée, entre autres, par son climat lors la phase de maturation du raisin. Plus spécifiquement à Bordeaux, il a été montré que la qualité du millésime est déterminée par l'intensité du stress dû au déficit hydrique plutôt que par le niveau des températures (Van Leeuwen et al., 2009). En effet, Picard et al. (2017b) ont démontré que la typicité du bouquet de vieillissement et notamment les notes de « truffe » et de « menthe » étaient positivement et significativement corrélées au statut hydrique mesuré par le $^{13}\delta C$ dans l'éthanol. D'autre part, les travaux de Le Menn et al. (2019), ont pu observer qu'il existait un lien positif entre les concentrations en composés aromatiques reconnus pour participer aux notes aromatiques du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux et les paramètres du terroir à savoir le statut hydrique et azoté de la vigne. Les teneurs en tabanones, composés marqueurs d'un vieillissement qualitatif, seraient plus élevées dans des vins issus de vignes ayant subies un statut hydrique sévère. Ensuite, le statut azoté influencerait les teneurs en DMS et hétérocycles dans les vins. Ces composés semblent participer aux notes de « truffe », « sous-bois » et « grillé » dans le bouquet de vieillissement. Il a surtout été observé que les concentrations en DMS sont plus élevées dans les vins issus de moûts avec un taux élevé d'azote assimilable.

L'observation de l'effet du terroir sur les caractères aromatiques et moléculaires du bouquet de vieillissement ont été initiés lors des précédentes études. Cela constitue un point de départ à notre travail. En raison des nombreux sols qui constituent l'espace viticole bordelais, de l'encépagement multivarié et du climat variable en fonction des millésimes, l'étude des paramètres du terroir et notamment la mesure du $^{13}\delta C$ dans les vieux vins, pourra nous donner une indication sur le comportement des molécules du bouquet de vieillissement de chaque cru de l'étude. De plus, la pratique de l'assemblage peut aussi influencer la composition des vins au vieillissement. Cet aspect sera également abordé.

Cette deuxième partie sera donc consacrée à approfondir les connaissances sur les liens entre les indicateurs du terroir et la composition des vins vieux de qualité. Nous pourrons ainsi entamer un travail sur la connaissance de précurseurs d'arômes. La connaissance des précurseurs peut s'avérer être un outil important pour prédire, dès la jeunesse du vin, leurs évolutions possibles au vieillissement.

Tout cela, nous permettra de répondre à la question qui anime cette deuxième partie : **existe-t-il un lien entre le terroir et l'expression du bouquet de vieillissement ?**

Chapitre 2. Effet des paramètres du terroir et des pratiques œnologiques sur les molécules du bouquet de vieillissement

1. INTRODUCTION

Depuis de nombreuses années, il est communément décrit que la qualité d'un vin et sa typicité sont liées à la notion de « *terroir* » (Salette, 1997; Cadot, 2006; Van Leeuwen and Seguin, 2006; Cadot et al., 2010). Le bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux est en étroite relation avec cette notion de qualité. De récents travaux ont souligné le fait que la notion de « *terroir* » est une composante désignée par les professionnels lors de la description d'un concept olfactif (Picard et al., 2015a). D'autre part, l'acquisition des connaissances sur le bouquet de vieillissement a montré qu'il résulte d'un mélange d'odeurs induit par la présence de molécules formées ou libérées à partir de précurseurs au cours de la vie du vin. Certains composés volatils ont été jugés déterminants dans l'expression du bouquet de vieillissement, dans une approche incluant l'expression des molécules odorantes au cœur de la matrice (Picard et al., 2015b, 2016a). Dans la première partie de notre étude, nous avons confirmé que le bouquet serait également le résultat de nombreuses interactions perceptives. Les résultats présentés en partie 1 ont également montré que les composés volatils des vieux vins permettraient une discrimination statistique des rives mais aussi des crus, ce qui confirme une hypothèse préalablement conçue selon laquelle le bouquet de vieillissement serait conditionné dans le raisin *a minima* par le biais de la présence de précurseurs.

Il apparaît donc que des conditions préétablies par le facteur « millésime » seraient nécessaires pour qu'un bouquet de vieillissement s'exprime à la faveur du facteur « temps ». Parmi les paramètres clés du terroir, l'alimentation en eau semble jouer un rôle particulier puisqu'il a été démontré qu'une limitation hydrique favorise le potentiel œnologique des raisins (Van Leeuwen et al., 2009; Picard, 2015). Si le temps permet la révélation de molécules présentes de manière embryonnaire dans le raisin, les millésimes conditionnent la diversité et la quantité de ces « précurseurs ». Cette révélation est soumise aux facteurs physico-chimiques (température, lumière, hygrométrie par exemple) qui modulent la qualité de la maturation des vins en cave. Ce dernier point ne sera que très faiblement abordé.

Dans ce chapitre, notre regard se portera sur le lien entre le terroir, s'exprimant dans un millésime et le bouquet de vieillissement des vins. L'objectif est d'observer comment les paramètres du terroir (statut hydrique) et les paramètres œnologiques (cépages et assemblages) influenceraient les molécules identifiées dans les vieux vins de qualité.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Vins étudiés

Les vins étudiés dans cette deuxième partie sont les mêmes que ceux présentés dans le **Tableau 7 –** soumis à la confidentialité (Partie 1, Chapitre 2, paragraphe 2.1, page 55). Les analyses ont été réalisées sur les vins issus des mêmes bouteilles que celles analysées et dégustées précédemment. Les codes sont identiques à ceux utilisés lors des résultats précédents.

2.2 Caractéristiques des crus de l'étude

Les données des assemblages des vins issus des 12 millésimes étudiés (1990 à 2007) ont été fournies par les responsables techniques des Châteaux partenaires. Ces données sont répertoriées dans les **Tableau 34** et **Tableau 35**. Les typologies globales des sols de chaque Château ont également été décrites dans ces tableaux.

Les Tableaux 34 et 35 ne sont pas autorisés à la diffusion.

2.3 Dosage du $\delta^{13}C$ dans l'éthanol

Le rapport isotopique $^{12}C/^{13}C$ (ou $\delta^{13}C$) de l'éthanol des 80 vins étudiés a été mesuré au Service Commun des Laboratoires de Pessac (Gironde, France), selon la méthode développée par Guyon et al. (2015). Cette technique utilise la spectrométrie de masse des rapports isotopiques couplée à un analyseur élémentaire (IRM-EA/MS : isotope ratio monitoring Elemental Analyzer Mass Spectrometry). La bioconversion du sucre en éthanol lors de la fermentation alcoolique implique que le $\delta^{13}C$ mesuré dans les vins est 1,7‰ inférieur à celui mesuré sur les sucres. Les niveaux des classification des déficits hydriques estimés dans les vins sont définis par extension de ceux proposés par Van Leeuwen et al. (2009).

- Déficit hydrique faible : $\delta^{13}C < -26,2‰$
- Déficit hydrique modéré : $-26,2‰ < \delta^{13}C < -24,7‰$
- Déficit hydrique sévère : $-24,7‰ < \delta^{13}C$

Tableau 34. Caractéristiques des vins de rive droite : crus, appellations, millésimes, assemblage, typologie générale des sols et codes. % M : % de merlot, % CF : % de cabernet franc, % CS : % de cabernet-sauvignon. **Diffusion non autorisée.**

Crus	Appellation	Millésime	Assemblage	Typologie sol	Code
1	**Diffusion non autorisée**	1990 1995 1996 1998 1999 2000 2001 2002 2004 2005 2006 2007	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**
2	**Diffusion non autorisée**	1990 1995 1996 1998 1999 2000 2001 2002 2004 2005 2006 2007	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**
3	**Diffusion non autorisée**	1990 1995 1996 1998 1999 2000 2001 2002 2004 2005 2006 2007	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**

Tableau 35. Caractéristiques des vins de rive gauche : crus, appellations, millésimes, assemblage, typologie générale des sols, codes. % M : % de merlot, % CF : % de cabernet franc, % CS : % de cabernet-sauvignon, % PV : % de petit verdot. **Diffusion non autorisée.**

Crus	Appellation	Millésime	Assemblage	Typologie sol	Code
4	**Diffusion non autorisée**	1990 1995 1996 1998 1999 2000 2001 2002 2004 2005 2006 2007	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**
5	**Diffusion non autorisée**	1990 1995 1996 1998 1999 2000 2001 2002 2004 2005 2006 2007	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**
6	**Diffusion non autorisée**	1990 1995 1996 1998 1999 2000 2001 2002 2004 2005 2006 2007	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**
7	**Diffusion non autorisée**	1995 1998 2000 2001 2002 2005 2006 2007	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**	**Diffusion non autorisée**

2.4 Quantification des composés volatils

Les composés volatils étudiés dans ce chapitre sont identiques à ceux présentés dans la partie 1 de ce manuscrit. Les méthodes utilisées pour leur quantification sont décrites dans la partie 1, chapitre 3 paragraphe 2.3 page 75.

2.5 Représentations et analyses statistiques

Une première approche descriptive (boxplots, nuages de points) a permis de visualiser les données dans leur ensemble et, en particulier, d'observer le comportement du statut hydrique en fonction des millésimes et de la typicité. Ensuite, les liens entre les teneurs en composés volatils et le $\delta^{13}C$ mesurés dans les vieux vins ont été analysés grâce à un test statistique mesurant le degré de corrélation entre variables deux à deux. Le test de Spearman a été utilisé après avoir vérifié la répartition des données. Une comparaison de variance (test de Student) a été utilisé après avoir vérifié les conditions d'applications du test paramétrique (normalité et homocédasticité des données). Le logiciel XLSTAT 2019 (Addinsoft, Paris, France) a été utilisé pour l'analyse statistique des résultats.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Influence du millésime et de la contrainte hydrique

L'expression du « millésime » viticole est le résultat des conditions climatiques qui vont induire des modulations de la phénologie de la vigne, de la maturité du raisin et, bien évidemment, de la qualité œnologique de la vendange. La viticulture de « terroir » pratiquée à Bordeaux produit des vins dont l'expression organoleptique est très dépendante des cépages utilisés et des sols. Les vins se doivent de proposer une interprétation nuancée des terroirs à chaque millésime. Les grands crus savent, en général, se jouer des aspects climatiques pour proposer des nuances qualitatives. La richesse des sols disposant de faibles réserves en eau et la maîtrise de la surface foliaire de la vigne favorisent l'établissement d'une contrainte hydrique appropriée à la maturité des raisins.

De ce fait, la régularité de la qualité des grands vins souligne la richesse des terroirs de ces crus et l'aptitude à révéler des qualités aromatiques au vieillissement sur de nombreux millésimes. Ces sols auraient un « effet tampon » permettant de lisser les conditions parfois extrêmes de certains millésimes.

Les 12 millésimes de cette étude (1990, 1995, 1996, 1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2004, 2005, 2006 et 2007) ont été sélectionnés pour leur caractère « classique » parmi les 30 dernières années. Étant donné que, parmi les éléments du terroir, un déficit hydrique modéré à sévère favorisait la typicité du bouquet de vieillissement (Picard et al., 2017b), nous avons souhaité évaluer le statut hydrique apparent des vignes dont sont issus les raisins qui ont constitué les vins. Le $\delta^{13}C$ sur les vins dans les 80 échantillons de notre étude a été mesuré. Les objectifs étaient, dans un premier temps, de confirmer le lien entre le statut hydrique et la typicité du bouquet de vieillissement de nos vins et, dans un deuxième temps, d'observer si cet indicateur pouvait expliquer la production de certains composés lors du vieillissement.

3.1.1 Caractérisation du statut hydrique des millésimes des crus étudiés

Dans un premier temps, la mesure du $\delta^{13}C$ dans les vins, nous a permis de prendre connaissance de l'état hydrique global des vignes dans le passé. Les valeurs mesurées varient de -27,65 à -24,38 ‰ (annexe 9) et sont en accord avec les valeurs mesurées dans d'autres séries de vins rouges de Bordeaux allant des millésimes 1995 à 2013 (Picard et al., 2017b). Il est néanmoins important de préciser que la mesure du $\delta^{13}C$ dans l'éthanol reflète un état de contrainte hydrique moyenné car les vins sont issus d'assemblages de plusieurs parcelles.

Les résultats concernant le statut hydrique de chaque millésime (tous crus confondus) sont présentés sur la **Figure 24**. Les bornes utilisées pour l'analyse des résultats sont celles définies précédemment (paragraphe 2.3, page 140). Ces résultats montrent que la majorité des vins sont issus de vignes qui étaient dans deux états hydriques : déficit hydrique faible et déficit hydrique modéré. Seul un vin de millésime 1995 est issu de vignes qui étaient, en moyenne, en déficit hydrique sévère. Les millésimes 1990, 1995 et 2005 sont les millésimes qui ont reçu des contraintes hydriques les plus prononcées. Les données climatiques (températures moyennes et précipitations) ainsi que les « Lettre du millésime à Bordeaux » de 1990, 1995 et 2005 (Geny et al., 2010) évoquent le fait que ces millésimes ont été à la fois très « secs » et « chauds ». Ces « lettres » mentionnent un lien entre les conditions climatique et l'opportunité de de réaliser des vins avec un grand potentiel œnologique prédestinés à une longue garde. En revanche, les millésimes 1999, 2001, 2002, 2004 et 2007 ont des déficits hydriques plutôt modérés.

La **Figure 25** représente la mesure du statut hydrique des 12 millésimes étudiés pour chacun des crus.

[…] – Diffusion non autorisée

La Figure 25 n'est pas autorisée à la diffusion. Par conséquent, les résultats et commentaires associés ont été supprimés pour cette version de diffusion.

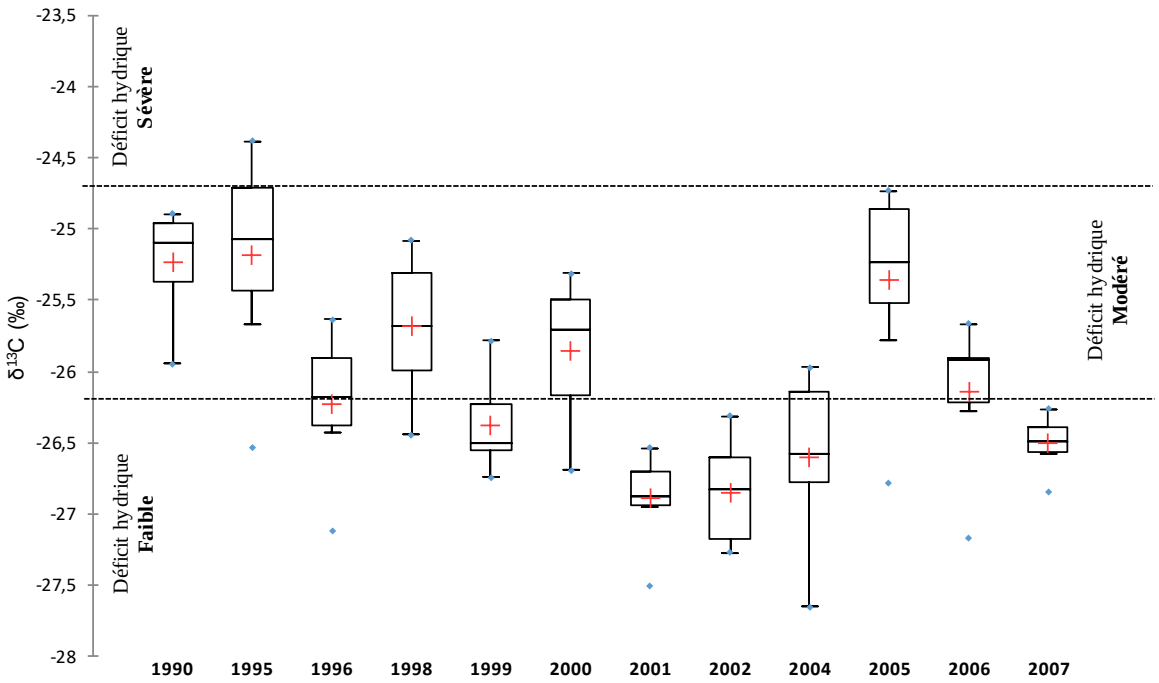


Figure 24. Estimation, par la mesure du $\delta^{13}C$ (‰) dans l 'éthanol, des statuts hydriques des vignes dont sont issus les vins étudiés.

Diffusion non autorisée

Figure 25. Estimation du statut hydrique de chaque vin pour les 12 millésimes étudiés par la mesure du $\delta^{13}C$ (‰) dans l'éthanol. **Diffusion non autorisée.**

3.1.2 Influence du statut hydrique sur la typicité du bouquet de vieillissement

Sur les séries de vins étudiés par Picard (Picard et al., 2017b) provenant des appellations Margaux, Pomerol et Saint-Émilion, un lien avait été proposé entre la typicité du bouquet mesurée par analyse sensorielle, les concentrations en marqueurs moléculaires et le statut hydrique. Nous avons voulu confirmer ces observations. Pour cela, nous avons sélectionné les vins pour lesquels la typicité du bouquet de vieillissement a été évaluée de manière consensuelle par les dégustateurs. Puis, nous avons confrontés les notes de typicité au $\delta^{13}C$ mesuré dans ces vins. Les résultats sont présentés à la **Figure 26**.

Diffusion non autorisée

Figure 26. Confrontation entre la note de typicité moyenne du bouquet de vieillissement et le $\delta^{13}C$ représentant le niveau de déficit hydrique moyen pour deux séries de vins sélectionnées (cru 1 et cru 6). Les vins jugés typiques du bouquet de vieillissement sont représentés par les carrés verts, les vins intermédiaires par les disques oranges et les vins non typiques par les triangles rouges. **Diffusion non autorisée.**

La Figure 26 n'est pas autorisée à la diffusion. Par conséquent, les résultats et discussions associées ont été supprimés pour cette version de diffusion.

[…] – Diffusion non autorisée

Tableau 36. Corrélations significatives entre le $\delta^{13}C$ mesuré dans les vins et les composés volatils. **Diffusion non autorisée.**

Cru 1				
	Matrice de corrélation (Spearman)	*p-value*	*R²*	*Corrélation*
	Diffusion non autorisée			
Cru 2				
	Matrice de corrélation (Spearman)	*p-value*	*R²*	*Corrélation*
	Diffusion non autorisée			
Cru 3				
	Matrice de corrélation (Spearman)	*p-value*	*R²*	*Corrélation*
	Diffusion non autorisée			
Cru 4				
	Matrice de corrélation (Spearman)	*p-value*	*R²*	*Corrélation*
	Diffusion non autorisée			
Cru 5				
	Matrice de corrélation (Spearman)	*p-value*	*R²*	*Corrélation*
	Diffusion non autorisée			
Cru 6				
	Matrice de corrélation (Spearman)	*p-value*	*R²*	*Corrélation*
	Diffusion non autorisée			
Cru 7				
	Matrice de corrélation (Spearman)	*p-value*	*R²*	*Corrélation*
	Diffusion non autorisée			

3.1.3 Influence du statut hydrique sur les molécules quantifiées dans les vieux vins

Les travaux menés par Picard et al. (2017) ont montré qu'en plus d'être liés à la typicité du bouquet de vieillissement, le $\delta^{13}C$ est également en étroite corrélation avec les intensités des descripteurs « menthe » et « truffe ». Dans notre série de vins, le $\delta^{13}C$ est également corrélé au descripteur « truffe » (coefficient de Spearman : 0,490, p-value : 0,016, R^2 : 0,241). Comme nous avons identifié le fait que l'ensemble des molécules contribuent à l'identité des vins vieux, et souvent au travers d'interactions, nous avons choisi de nous intéresser au comportement de ces composés face aux évaluations des statuts hydriques des vignes. Une recherche de corrélation a été effectuée à l'aide de l'application du test de Spearman entre les mesures du $\delta^{13}C$ et les teneurs en molécules volatiles dosées dans les vins de chaque cru. Les résultats des tests de corrélation qui se sont révélés significatifs sont présentés dans le **Tableau 36**.

Le Tableau 36 n'est pas autorisé à la diffusion. Certains paragraphes ont été supprimés pour cette version de diffusion.

On observe, à l'échelle des crus que le $\delta^{13}C$ est corrélé à quelques variables chimiques mais celles-ci diffèrent suivant les crus. Le sens des corrélations est lui aussi variable. Ce qui est réellement intéressant de constater est qu'il existe certains terpènes qui, pour certains crus, verront leurs teneurs augmenter lorsque le statut hydrique est limitant (cas des cinéoles ou de l'oxyde de *trans*-linalol). En revanche, d'autres terpènes montrent l'effet inverse et présentent des teneurs plus faibles lorsque le statut hydrique est limitant (terpinèn-4-ol, *p*-cymène, nérolidol par exemple). Dans la littérature, les résultats des études portant sur les effets du statut hydrique de la vigne sont également contrastés. Certains auteurs démontrent que les concentrations en monoterpènes augmenteraient avec l'intensité du déficit hydrique dans les raisins et vins blancs (Schüttler et al., 2013; Robinson et al., 2014; González-Barreiro et al., 2015; Savoi et al., 2016) et d'autres décrivent que, au contraire, les teneurs en monoterpénols seraient plus élevées dans les raisins de vignes irriguées par rapports aux vignes non-irriguées (Giordano et al., 2013). Finalement, nos résultats rejoignent ces observations dans le sens où les alcools monoterpéniques tels que l'α-terpinéol ou les terpinènols sont anti-corrélés au statut hydrique. De plus, il a été reporté que les teneurs en cinéoles mesurées dans les vins pourraient s'expliquer par les paramètres du terroir combinant à la fois le climat et l'humidité du sol (Antalick et al., 2015; Poitou et al., 2017). Les auteurs annoncent que les concentrations en ces deux composés seraient plus faibles lorsque les vignes, en années sèches, auraient subi une contrainte hydrique. Mais, il n'est pas impossible que cet effet soit fortement lié à la température. En revanche, dans notre cas, les teneurs en 1,8-cinéole dans les vieux vins rouges de Bordeaux sont très sensiblement influencées par le statut hydrique puisque celui-ci favoriserait leur présence.

Pour les C_{13}-norisoprénoïdes, les mêmes tendances que les terpènes sont observées. Les teneurs de certains composés comme le TPB, le vitispirane sont anti-corrélées au $\delta^{13}C$ tandis que les teneurs en β-damascénone augmenteraient de manière significative lorsque le statut hydrique est limitant. Ces résultats rejoignent les observations de Bindon et al. (2007) qui montrent que la contrainte hydrique induite par le séchage partiel de la zone racinaire, favorise une augmentation des concentrations en β-damascénone et d'autres C_{13}-norisoprénoïdes à l'approche de la maturité du raisin. L'augmentation des teneurs en TDN et en tabanones en raison d'une forte contrainte hydrique a également été décrite dans la littérature (Schüttler et al., 2013; Le Menn et al., 2019). En revanche, dans notre cas, il n'existe aucune corrélation positive et significative entre ces composés et le déficit hydrique sur l'ensemble des crus. Ce résultat est à moduler par le fait que l'étendue des valeurs des indicateurs de contraintes hydriques mesurées est faible et correspond à des terroirs de grands crus. Cette absence de valeurs extrêmes pourrait mathématiquement cacher l'existence de corrélations calculables. La spécificité de l'échantillonnage est à considérer dans l'interprétation de ces résultats.

[…] – Diffusion non autorisée

En conclusion, la mesure du $\delta^{13}C$ dans les vins, nous permet d'estimer le statut hydrique des vignes dans le passé pour les vins étudiés. Même si cet indicateur n'est pas le reflet exact du comportement des vignes, étant donné que les vins sont issus d'assemblages de plusieurs parcelles monovariétales, il permet de pouvoir raisonner globalement sur l'effet du statut hydrique sur les molécules quantifiées dans les vins vieux. Les résultats sont contrastés mais le comportement de certains terpènes et du DMS sont cohérents avec les quelques données bibliographiques obtenues dans d'autres terroirs ou avec d'autres outils de mesure. Pour ces vins et ces molécules, les résultats confirment qu'un vin à fort potentiel de garde doit être construit avec la connaissance et la maitrise des statuts hydriques des vignes. Ces paramètres pourraient, en outre, être pris en compte dans les stratégies d'assemblages.

3.2 Influence des cépages dans l'expression du bouquet

Les résultats obtenus lors de la caractérisation chimique des crus étudiés ont montré qu'il existait une spécificité moléculaire propre aux crus de l'étude (Partie 1 - Chapitre 3, paragraphe 3.5, page 115). Lors de l'introduction générale de ce manuscrit, il a été rappelé que chaque rive de l'aire viticole bordelaise correspond à des sélections de cépages spécifiques. Ces cépages influencent les profils aromatiques des vins. Chaque cépage ayant ses spécificités organoleptiques, celles-ci se déclinent sous différentes nuances selon le sol et le climat (Dubourdieu, 2003). En effet, les résultats précédents ont révélé que les molécules terpéniques, les C_{13}-norisoprénoïdes, le DMS et certains esters seraient dépendant du statut hydrique des vignes et cet effet diffère selon les terroirs. Ainsi, après quelques années de vieillissement,

la composition des raisins et, *in fine,* des vins résulte de l'expression d'un cépage modulé par le type de sol, le climat, l'exposition et la conduite humaine (Van Leeuwen and Seguin, 2006). Les travaux précédents sur le bouquet de vieillissement ont montré que les teneurs en pipéritone étaient liées aux variations des pourcentages de cabernet-sauvignon dans les assemblages (Picard et al., 2016b). À la suite de cela, nous nous sommes demandés quelle est la part à attribuer au cépage dans le profil chimique des vins étudiés. Ce cépage pourrait expliquer la différenciation des rives et crus observée lors de la partie 1 de cette thèse. Ainsi, dans un premier temps, les pourcentages de cabernet franc, merlot et, dans une moindre mesure, ceux du cabernet-sauvignon des vins de rive droite (**Tableau 34**) ont été confrontés aux concentrations des molécules qui caractérisaient de manière significatives les vins des Châteaux de rive droite et qui permettaient leur différenciation (**Tableau 33**). Dans un deuxième temps, la même démarche a été effectuée en confrontant les molécules qui étaient déterminantes dans la différenciation des Châteaux de rive gauche (**Tableau 33**) aux pourcentages des cépages constituant ces vins (**Tableau 35**). Les résultats sont présentés sur la **Figure 27**.

La Figure 27 n'est pas autorisée à la diffusion. Par conséquent, les résultats et discussions associées ont été supprimés pour cette version de diffusion.

[…] – Diffusion non autorisée

Diffusion non autorisée

Figure 27. Corrélations (coefficient de Spearman, p-value, R^2) entre les teneurs en composés volatils et la proportion du cépage dans les assemblages des vieux vins. CS : cabernet-sauvignon ; M : merlot ; CF : cabernet franc ; PV : petit verdot. **Diffusion non autorisée.**

La mise en évidence de certaines corrélations entre les cépages et les molécules peut s'avérer intéressante pour valoriser quelques caractères odorants au vieillissement. Elles soulignent l'importance de cépages, des fois minimes, sur la typologie du bouquet révélé au vieillissement. Par exemple, pour les vins de rive droite, l'importance du cabernet franc est soulignée. Vraisemblablement, la présence de ce cépage est importante dans la production d'un vin rafraichissant. En effet, la pipéritone, le 1,4-cinéole, le salicylate de méthyle et le vitispirane sont des composés qui peuvent apporter des notes « camphrées », « menthées », « rafraîchissantes » aux vins. Ces molécules sont retrouvées corrélées à la proportion de cabernet franc implanté sur la rive droite. Dans un contexte de réchauffement climatique, la valorisation de ce cépage dans les réflexions d'assemblage pourrait être une alternative à la production de futurs vins, dont le caractère « frais » serait apprécié des dégustateurs. Ces réflexions méritent d'être discutées autour des autres critères qui font la typicité des vins de Bordeaux.

4. CONCLUSIONS

Cette partie de l'étude visait, d'une part, à relier le statut hydrique des vignes et la composition moléculaire des vins vieux et, d'autre part, à étudier la contribution des assemblages de cépages sur ladite composition a montré des résultats contrastés. Ces travaux ont confirmé bon nombre de résultats déjà consignés dans la littérature. Dans un premier temps, les résultats obtenus montrent que le statut hydrique influence la formation de composés volatils et ces derniers, au cours du vieillissement, vont contribuer au bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux. D'ailleurs, la typicité du bouquet de vieillissement serait très étroitement liée au statut hydrique comme l'avait prévu Picard au cours de sa thèse (Picard, 2015; Picard et al., 2017b). Nous apportons alors, une explication moléculaire aux travaux préalablement effectués sur le sujet. Dans un second temps, nous montrons que certaines molécules présentes dans les vins vieux peuvent être corrélées au pourcentage de raisins issus de certains cépages sélectionnés lors des assemblages. Les choix techniques en production peuvent potentiellement s'inspirer de ces résultats.

Cependant, les données obtenues montrent aussi qu'aucun lien clair ni univoque n'existe. L'effet du statut hydrique est contrasté suivant les millésimes et les terroirs. La diversité de ces derniers au sein du vignoble bordelais, fait que les Châteaux s'expriment différemment face à cette contrainte. Le terroir doit être considéré dans son entièreté. L'expression du millésime peut être considérée, au travers du statut hydrique mais aussi à la lumière des autres paramètres du terroir.

Par contre, nous pouvons assumer le fait que l'état hydrique des vignes influence directement la composition aromatique des vins vieux. Mais, les études dans le domaine des arômes de vieillissement nécessitent un vieillissement long et naturel des vins dont les terroirs d'origine et les conditions du

millésime doivent être parfaitement caractérisées dès le départ. Il est quasiment impossible de réaliser ce genre d'expérimentation sur plusieurs années dans le cadre des projets de recherche. C'est la raison pour laquelle, à ce jour, peu d'études sont publiées ou en cours sur ce sujet. Si le « temps scientifique » semble long au vu de l'instantanéité des prises de décisions dans la société actuelle, le « temps de maturation du vin » peut sembler infini et a probablement découragé les chercheurs. Cependant, depuis quelques années, de nombreuses avancées scientifiques ont permis de comprendre l'influence du terroir au travers du climat et du sol sur quelques molécules responsables des arômes des vins (Van Leeuwen et al., 2020).

Une stratégie de travail pourrait être celle de l'identification de précurseurs de molécules du bouquet. La connaissance des liens entre leurs teneurs, les paramètres du terroir et la compréhension de leurs mécanismes de maturation serait alors un atout. Enfin, l'étude d'autres facteurs liés au terroir seraient très certainement indispensables à la compréhension de la qualité d'un millésime favorisant l'expression aromatique des vins, même après de longues années de vieillissement. Parmi ces paramètres, l'azote, composé essentiel au développement végétatif et reproducteur de la vigne est certainement un autre facteur essentiel.

Chapitre 3. Origine et libération au vieillissement de molécules à caractère olfactif particulier

1. INTRODUCTION

L'alimentation raisonnée en eau et en azote de la vigne sont les deux leviers fondamentaux à la production de raisins à haut potentiel œnologique permettant ensuite, l'élaboration de grands vins de garde (Van Leeuwen et al., 2018). Le chapitre précédent a permis de consolider l'hypothèse selon laquelle, le bouquet de vieillissement est en lien étroit avec les paramètres du terroir. Mais nous avons aussi observé que les liens sont complexes et multiparamétriques. Si la contrainte hydrique, reflet direct des conditions du millésime, est impliquée dans le vieillissement des vins, le statut azoté aurait aussi son importance puisque des études récentes ont montré que les teneurs en DMS ou en hétérocycles aromatiques, retrouvés dans les vieux vins rouges, sont corrélées positivement avec le statut azoté des vignes (Le Menn et al., 2019). Lors de cette étude, les teneurs en azote assimilable des raisins lors de l'élaboration des vins était connue et ces données ont été consignées et conservées alors que les vins vieillissaient. Dans notre cas, nous n'y avons pas eu accès et il est donc impossible de mesurer directement le lien entre nos composés étudiés et l'azote des jus ou des raisins.

D'autre part, l'effet variétal des composés du bouquet de vieillissement est mis en avant. Empiriquement, les terpènes et C_{13}-norisoprénoïdes sont connus pour être pré-synthétisés dans le raisin. De plus, l'effet variétal sur les teneurs en DMS et en composés à odeur « menthée » a été aussi souligné (Fedrizzi et al., 2007a; Capone et al., 2012; Picard et al., 2016b). Les molécules retrouvées dans les vieux vins rouges de Bordeaux sont le résultat d'une évolution lente et complexe. La plupart des composés quantifiés dans les vieux vins et qui participent à l'identité des crus étudiés (Partie 1, Chapitre 3), proviennent de précurseurs dont la maturation induirait l'apparition des composés d'intérêts. Il est donc important de connaître les facteurs du terroir et des millésimes qui influencent les teneurs des précurseurs des composés volatils, afin de pouvoir prédire une évolution plus ou moins qualitative des vins. Mais l'identification de précurseurs est un travail qui nécessite souvent de nombreuses techniques analytiques et des compétences transversales. Il existe alors une approche parallèle qui consiste en la libération forcée d'une molécule dans le moût de raisin ou le jeune vin. C'est l'approche utilisée par Ségurel (Segurel et al., 2005), dont la libération forcée par hydrolyse basique à chaud, permet de prédire le potentiel en DMS des vins.

Dans le cadre de l'étude du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux, notre objectif est de comprendre comment ce dernier est conditionné. La connaissance des précurseurs des molécules d'intérêts du bouquet ou le recours aux méthodologies permettant de prédire un « bouquet potentiel »

est indispensable dans cette stratégie d'étude. Notre regard se portera plus spécifiquement sur le DMS et les composés à odeurs « menthés ». Ces molécules étaient ciblées à la fin du travail de thèse de Picard (Picard, 2015) pour leur contribution dans le bouquet de vieillissement et leur origine variétale. L'objectif de ce chapitre sera, d'une part, de connaître les modulations des teneurs potentielles en DMS et d'autre part, d'avancer sur la connaissance de l'évolution des composés « menthés » au cours du temps. À long terme, il s'agirait d'obtenir des outils pour pouvoir déterminer, dans le vin jeune ou le jus, la richesse en précurseurs et de connaître l'aptitude des vins à développer un bouquet au vieillissement.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Dosage du potentiel en DMS (pDMS) dans les vieux vins

Les vins étudiés sont les mêmes vins présentés lors de la Partie 1 et lors du Chapitre 2 de cette Partie 2. Les codes de ces vins sont présentés dans le **Tableau 7** (soumis à la confidentialité).

La méthode utilisée pour quantifier le potentiel en DMS (pDMS) dans les vins vieux fait référence à la méthode développée par Ségurel (Segurel et al., 2005). Elle se base sur la révélation par hydrolyse basique du DMS depuis ses précurseurs dont la *S*-méthylméthionine serait le majoritaire. Puis, l'analyse du DMS révélé se fait par chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. La *S*-méthylméthionine de référence utilisée pour la quantification du pDMS dans les vins vieux est du chlorure de *S*-méthylméthionine pur à 99% fourni par Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France).

2.1.1 Hydrolyse basique et analyse du pDMS

Dix millilitres de vin sont ajoutés dans un vial préalablement rempli de 3 g de NaCl. Des volumes de 1 mL de NaOH 5 mol/L et de 10 µL de thiophène à 318 mg/L (étalon interne en solution hydroalcoolique 50% v/v) sont ensuite ajoutés. Les vials sont fermés avec une capsule à visser contenant un joint téfloné. Après une homogénéisation au vortex de quelques secondes, les échantillons sont chauffés 1h à 95°C.

Une fois l'hydrolyse effectuée, les vials sont déposés sur le portoir du chromatographe Agilent 7890 A (Agilent technologies) et l'analyse du DMS révélé se fait selon les conditions d'extraction et de quantification de la méthode « DMS » présentée dans le **Tableau 26**. Les analyses ont été réalisées sur échantillons non congelés, en duplicats. Les prélèvements étaient effectués à l'aide du système CORAVIN™ avant les séances de dégustation des vins.

2.1.2 Quantification du potentiel en DMS dans les vieux vins

La quantification du pDMS dans les vins était obtenue par référence à une courbe de calibration réalisée à partir de la *S*-méthylméthionine ajoutée (solution de *S*-méthylméthionine à 41,4 mg/L en solution hydroalcoolique 50% v/v). Les conditions de calibration sont reportées en annexe (annexe 7).

Le calcul de la teneur en DMS libérable théorique depuis la quantité de *S*-méthylméthionine ajoutée au vin tiendrait compte des rapports molaires de la réaction décrite par Segurel et al. (2005). Avec la *S*-méthylméthionine de référence employée (masse molaire : 199,7 g/mol), le rapport est de 3,21 mg de DMS libéré pour 10 mg de *S*-méthylméthionine ajoutée (masse molaire DMS : 62,1 g/mol). La courbe de calibration présentée en annexe tient compte directement du rapport 3,21 calculé. Ensuite, pour quantifier seulement le DMS libéré (pDMS), le DMS libre formé au cours du vieillissement du vin a été soustrait. Celui-ci a été préalablement quantifié selon la méthode de dosage du DMS présentée dans la Partie 1, Chapitre 3, paragraphe 2.3.7, page 87). Les deux analyses du « DMS libre » et du « DMS libérable ou pDMS » ont été effectuées au même moment. Les analyses de « DMS libre » sont celles qui ont été présentées dans la Partie 1 et chapitre 3 de ce manuscrit.

Finalement, on peut résumer le calcul du potentiel en DMS sur vin vieux ou appelé ici « DMS libérable » pour faire référence au DMS encore capable de se libérer au fil du temps :

DMS libérable (µg/L) = DMS total – DMS libre

- DMS libre (en µg/L) : DMS libéré au cours du vieillissement du vin en bouteille. Quantifié à l'aide de la méthode DMS classique.
- DMS total (en µg/L) : DMS déjà libéré lors du vieillissement du vin + DMS libéré lors de l'hydrolyse basique. Le tout quantifié grâce à la courbe de calibration de la *S*-méthylméthionine corrigée avec le coefficient de 3,21.

2.2 Libération des composés à odeur « menthée » dérivés du limonène

Mme Sera Goto a contribué aux travaux décrits dans cette partie, dans le cadre de son stage de seconde année du Master Sciences de la Vigne et du Vin de l'Université de Bordeaux. Son projet de stage s'intitulait « Contribution à la connaissance du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux. Analyse chimique et sensorielle des composés issus de la dégradation du limonène ».

2.2.1 Produits chimiques et consommables

L'eau ultrapure (18,2 MΩ.cm^{-1}) utilisée pour la dilution des échantillons a été obtenue depuis un réservoir d'eau distillée (Prima system ; ELGA LabWater, Veolia Water STI, Anthony, France) et purifiée par un système USF Maxima (ELGA LabWater, Veolia Water STI, Anthony, France). L'éthanol (99,9%) est fourni par Merck (Darmstadt, Allemagne). Les enzymes glycosidases « Rapidase® Revelation Aroma » sont fournies par Oenobrands SAS (Montferrier-sur-Lez, France). L'acide tartrique (≥ 99,5%) le chlorure de sodium (NaCl) (≥ 99,5%) l'acide chlorhydrique (37%) et l'hydroxyde de potassium (≥85%) sont fournis par Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France).

2.2.2 Matrices de travail

Le vin est produit à partir de 60% de raisins de cabernet franc et 40% de merlot et est issu de l'appellation Puisseguin Saint-Émilion et du millésime 2019.
La solution modèle « vin » utilisée est fabriquée à base d'eau ultrapure et d'éthanol à 12% v/v additionnés de 4 g/L d'acide tartrique. Le pH a ensuite été ajusté à 3,5 par de l'hydroxyde de potassium.

2.2.3 Libération enzymatique des composés menthés

Trois essais ont été réalisés afin d'optimiser au maximum la méthodologie de libération des composés.

- Essai 1 : choix de la concentration en enzyme
- Essai 2 : choix du temps d'incubation
- Essai 3 : influence de la température d'incubation (test parallèle)

Une solution mère d'enzyme Rapidase® Revelation Aroma (AR2000) à 100 g/L dans de l'eau ultrapure a été préparée. Elle a ensuite été ajoutée au « vin matrice » à différentes concentrations selon les modalités à effectuer pour la première optimisation (Essai 1). Pour ce premier essai, les échantillons ont été incubés dans des flacons SCHOTT® de 60 mL pendant 24 h. Une fois la concentration choisie, une deuxième optimisation (Essai 2) a été effectuée. Les échantillons ont été soumis à plusieurs temps d'incubation à 25°C sous une agitation par rotation homogène. L'essai 3 était indépendant mais a permis de tester deux températures d'incubation afin d'observer les comportements des composés. Les différents paramètres d'optimisation de chaque essai sont décrits dans le **Tableau 37**. Des témoins ont été insérés dans le plan expérimental afin de quantifier les composés « menthés » dans le vin (témoin négatif) et d'observer l'effet de la température d'incubation sur le vin (sans enzyme – témoin positif). Après incubation, les échantillons sont préparés selon la méthode décrite ci-dessous dans le paragraphe 2.2.5 (page 158) et analysés en triplicats.

2.2.4 Libération des composés menthés par hydrolyse acide

Un essai d'hydrolyse acide a été effectué. Pour cela, deux matrices ont été soumises à cet essai : vin et solution modèle « vin ». Avec cette méthodologie de libération, le temps d'incubation a été soumis à une optimisation.

Pour l'hydrolyse acide réalisée sur vin (Essai 4), le pH de 100 mL de vin a été ajusté à 2,5 avec une solution de HCl à 1 M. Ensuite, 20 mL de vin ont été introduits dans des flacons SCHOTT® de 60 mL. Après fermeture par une capsule hermétique, les échantillons sont incubés à 95°C pendant différentes durées (0, 60, 90, 120 ou 180 min). Un témoin a été réalisé afin de voir l'effet de l'incubation à 95°C sur le vin sans modification du pH. Après refroidissement, les échantillons sont préparés selon la méthode décrite ci-dessous dans le paragraphe 2.2.5 (page 158) et analysés. Les essais sont faits en triplicats.
Pour l'hydrolyse acide sur solution modèle « vin », une goutte de limonène « pur » à 96% a été introduite dans le milieu afin de simuler le point de départ de la libération. Le pH de la solution modèle de vin a également été ajusté à 2,5 à l'aide de la même solution d'acide chlorhydrique. Les mêmes modalités de temps d'incubation ont été testées.

Les modalités d'optimisation de cette méthode sont également décrites dans le **Tableau 37**. En raison de l'exploration des essais, chaque expérimentation n'a pas été réalisée en triplicats biologiques par manque d'échantillons et de temps. Seuls des triplicats analytiques ont été effectués.

Tableau 37. Plan expérimental et modalités employées pour la libération des composés à odeur "menthée" dans les vins jeunes. ø : absence ; incub : incubation.

Essais	Méthode de libération	Effet étudié	Modalités	T° d'incubation	Modalités Témoin
1	Enzymatique	Concentration enzyme	0,02 ; 5 ; 10 ; 20 g/L	25°C	Témoin + : ø enzyme, incub Témoin - : ø enzyme, ø d'incub
2	Enzymatique	Temps d'incubation	0 ; 24 ; 48 h ; 1 semaine	25°C	Témoin : ø enzyme, ø d'incub
3	Enzymatique	T° incubation	4°C et 25°C	-	Témoin : ø enzyme, ø d'incub
-	Hydrolyse acide	Temps d'incubation	0 ; 60 ; 90 ; 120 ; 180 min	95°C	Témoin + : pH du vin, incub Témoin - : pH du vin, ø incub

2.2.5 Quantification des composés à odeur « menthée » par SPME-GC-MS/MS

Lorsque la libération des composés est terminée, 20 mL sont prélevés et transférés dans des flacons SCHOTT® de 60 mL où 20 mL d'eau ultrapure et 20 µL d'étalon interne (D-camphre à 12,8 mg/L dans 100% acétonitrile) avaient été ajoutés. Après homogénéisation, 10 mL du mélange sont insérés dans un vial SPME préalablement rempli de 4 g de NaCl. Après fermeture, à l'aide d'une capsule à vis équipée d'un joint téfloné, et homogénéisation, les vials sont prêts à être analysés. Ensuite, la quantification des composés à odeur « menthée » se fait grâce une méthode qui combine l'étape d'extraction des composés volatils par SPME-arrow avec l'analyse chromatographique couplée à une spectrométrie de masse triple quadrupole. La méthode utilisée pour quantifier les dérivés du limonène a été présentée lors de la partie 1 de cette thèse (Partie 1, Chapitre 3, paragraphe 2.3.4, page 80).

2.2.6 Analyses statistiques

L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du progiciel XLSTAT Basic pour Windows Excel (2020, AddinSoft, Paris, France). Les données portant sur les composés volatils ont été traitées à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA) après vérification des conditions d'application du test. L'équivalent non-paramétrique de Kruskal-Wallis a été utilisé dans le cas où les conditions d'application du test ANOVA n'étaient pas respectées. Une comparaison par paires *via* le test de Tukey HSD (paramétrique) ou le test de Dunn (non-paramétrique) a été entrepris afin de comparer les différences entre les modalités.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Potentiel en DMS des vins vieux

Le sulfure de diméthyle (DMS) est libéré depuis son/ses précurseur/s au cours du vieillissement du vin. La libération se ferait au cours des 10 premières années du vieillissement du vin. Cependant, cette donnée n'est pas consolidée par une étude cinétique. Les quantités en DMS obtenues dans les vins vieux varient en fonction des millésimes et des crus considérés (de Mora et al., 1987; Anocibar Beloqui, 1998; Picard et al., 2015b). Les quantités de DMS présentes dans les vins vieux seraient prédéterminées dans les vins jeunes voire dans les jus. Ainsi, les teneurs en DMS dans les vieux vins dépendent fortement de la quantité de précurseur/s présent/s mais aussi possiblement de la température lors du stockage, du pH des vins et de leur état d'oxydo-réduction (Marais, 1979; Ugliano, 2013; Ferreira et al., 2014; Bekker et al., 2016; Franco-Luesma and Ferreira, 2016).

Un outil de prédiction des teneurs en DMS dans les vins a été développé par Segurel et al. (2005). Le principe de cette technique ainsi que l'origine du DMS seront davantage détaillés dans le partie 3 de cette thèse (Chapitre 1, paragraphe 2.1, page 179). Ici, notre objectif est seulement d'observer la quantité de DMS encore potentiellement libérable dans les vins. Nous avons donc réalisé le dosage du potentiel en DMS (pDMS) dans les vins vieux étudiés issus des millésimes 1990 à 2007 et analysés en 2018 (les vins étaient âgés de 11 à 28 ans). Ces résultats ont été mis en regard des teneurs en DMS libre mesurées dès l'ouverture de la bouteille.

La **Figure 28** révèle le réservoir en DMS encore libérable de chaque échantillon. La somme du DMS libre et du DMS potentiel (encore libérable) correspond à l'estimation du potentiel en DMS initial, c'est-à-dire du pDMS du vin à la mise en bouteille. Au moment du dosage, on peut supposer qu'il existe un équilibre entre le DMS libre et son précurseur. Cet équilibre pourrait, par exemple, être lié à la composition de la matrice. Les teneurs en pDMS (en µg/L) mesurées sur chaque vin sont présentées en annexe (annexe 8.8) aux côtés de celles mesurées pour le DMS libre.

[…] – Diffusion non autorisée

La Figure 28 n'est pas autorisée à la diffusion. Par conséquent, les résultats et discussions associées ont été supprimés pour cette version de diffusion.

a)

b)

Diffusion non autorisée

c)

d)

Figure 28. Représentation de la quantité de DMS encore libérable (ou pDMS - couleur foncée) et du DMS déjà libéré (DMS libre - couleur claire) pour les vins de rive droite (a et b) et de rive gauche (c et d). **(a)** teneurs en µg/L du « DMS libérable » et du « DMS libre » dans les millésimes des crus de rive droite étudiés, **(b)** pourcentage que représente le « DMS libérable » et « libre » dans les crus de rive droite. Les graphiques **(c)** et **(d)** correspondent aux teneurs et aux pourcentage pour les vins de rive gauche. **Diffusion non autorisée.**

Finalement, il existe des points de différenciation entre les deux rives. Même si les vins de rive droite ne sont pas spécialement plus riches en DMS libre, au moment où les vins ont été analysés, le rapport entre le DMS libre et le DMS potentiel est largement plus faible pour ces vins. Outre le fait que le DMS ne serait pas corrélé à l'âge des vins (ce que nous avons montré dans la partie 1, Chapitre 3 de cette thèse), certains auteurs précisent que le pourcentage de DMS libéré (rapport DMS libre sur DMS total (pDMS + DMS libre)) est lui, linéairement corrélé à l'âge des vins (Segurel et al., 2004; Dagan, 2006). Lorsque ce suivi est réalisé au cours des 10 premières années, Segurel et al. (2004) ont montré que le DMS dans des vins de syrah se libérait de 10% par an. Après 10 ans de conservation, il est montré que la corrélation atteint un plateau dont le taux de conversion du pDMS en DMS atteindrait une valeur d'environ 75% dans les conditions de vieillissement naturel, quels que soient la matrice et les quantités de pDMS initiales (Segurel et al., 2004; Dagan and Schneider, 2013). La **Figure 29** représente le taux de conversion du pDMS en DMS mesuré dans les vins selon leurs âges. Pour les deux rives, ce taux de conversion atteint bien un plateau comme indiqué dans la littérature. Les coefficients de régression mesurés ici sont faibles (0,2 pour les deux rives). Les vins de l'étude sont âgés de minimum 10 ans, ce qui implique que la conversion du DMS a sûrement été réalisée lors des 10 premières années de vieillissement. Selon Dagan (Dagan, 2006), la libération du DMS à partir de son précurseur impliquerait des phénomènes plutôt continus et peu dépendants de la matrice, étant donné qu'une libération du DMS dans des vins rouges (syrah et grenache) a pu être transposée à celle des vins blancs (petit et gros manseng). Nous montrons ici que la composition de la matrice pourrait influencer cette libération. Un regard doit être porté sur la composition phénolique des vins. Les différences de libération du DMS observées pourraient aussi être causées par d'autres facteurs. Par exemple, la température de conservation ou le pH auraient été intéressants à étudier pour essayer d'expliquer cette observation. À l'avenir, un plan expérimental avec ajout de SMM dans les vins devra être construit afin d'étudier la conversion en DMS en fonction des paramètres de pH et température.

De plus, comme nous l'avions décrit sur la **Figure 28**, certains vins atteignent des taux de conversion plus élevé que 75% tandis que pour d'autres, les taux de conversion sont bien inférieurs à 75%. Il semblerait que les libérations soient plus lentes pour ces vins. Il serait nécessaire de s'assurer que la SMM est bien l'unique précurseur du DMS. Dans la positive, un dosage de la *S*-méthylméthionine (SMM) dans ces vins pourrait indiquer s'il reste encore du DMS à libérer, ce qui expliquerait pourquoi les vins de rive droite ont atteint seulement un taux de conversion de 40%. Dans ce cas, les vitesses de libération pour ces vins seraient plus faibles. La mise en place d'une méthode de dosage de la SMM par HPLC-UV avait été entreprise au laboratoire mais malheureusement, cela n'a pas été concluant dans le peu de temps imparti. De ce fait, beaucoup de questions restent à ce jour sans réponse. À l'avenir, un développement d'outil analytique devra être prioritaire pour poursuivre les études de la prédiction du DMS dans les vins âgés.

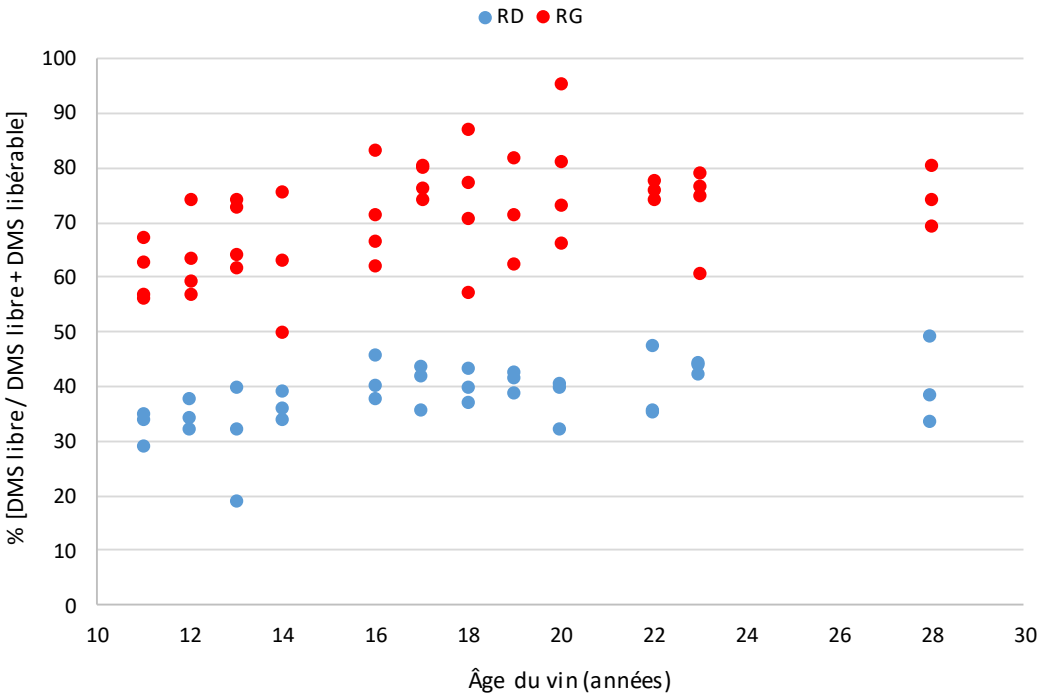


Figure 29. Taux de conversion du pDMS en DMS mesuré dans les vins de rive droite (points bleus) et les vins de rive gauche (points rouges) en fonction de leurs âges.

D'autre part, le taux de DMS (DMS libre + DMS encore libérable) est différent entre les rives et est plus élevé pour les vins de rive droite. Cela implique que le terroir, qui est spécifique à chaque cru étudié, influence la quantité totale de DMS potentiel. On pourrait penser que le merlot (cépage majoritaire dans ces vins), serait un cépage qui aurait, dans sa composition, des teneurs en précurseur du DMS assez importante. Cependant dans le chapitre précédent, l'analyse des teneurs en DMS n'a pas montré de corrélation positive et significative avec les proportions de ce cépage dans les assemblages des vins de rive droite. D'autre part, Le Menn et al. (2019), ont montré que les teneurs en DMS après le vieillissement des vins étaient davantage conduites par le statut azoté de la vigne, induit par le type de sol et les conditions climatiques, que par le cépage. Ces travaux étaient réalisés sur des vins issus d'une même zone climatique, avec un accord sol/complant issu d'un plan expérimental et non pas de la réalité viticole. Cela peut constituer une différence avec l'étude en vins commerciaux de cette thèse. De ce fait, les données relatives à l'azote assimilable ainsi qu'aux parcelles des lots de vins constituant l'assemblage du grand vin dans chaque millésime auraient été intéressantes à confronter à nos données de DMS.

Également, on remarque que ce ne sont pas forcément les millésimes dont la contrainte hydrique est plus importante (Chapitre 2, paragraphe 3.1.1, page 144) qui prétendraient à des teneurs en potentiel en DMS les plus élevées. Sur l'ensemble des échantillons, le potentiel en DMS montre une faible mais significative anti-corrélation avec la contrainte hydrique (matrice de Spearman : -0,229, p-value : 0,041,

R^2 : 0,053). Donc, la contrainte hydrique n'influencerait pas clairement les teneurs en DMS potentiel de ces vins vieux particuliers. Cependant, les travaux de De Royer Dupré et al. (2014) montraient que les acides aminés des baies étaient accumulés davantage lorsque les raisins avaient subi une contrainte hydrique, ce qui garantissait un niveau d'azote assimilable nécessaire au bon déroulement des fermentations et à la conservation du pDMS pour le vieillissement des vins. Donc, le faible lien entre contrainte hydrique et pDMS pourrait être une conséquence mathématique des liens « statut hydrique/azote » et « azote/pDMS ». D'ailleurs, la *S*-méthylméthionine (principal précurseur du DMS) est un dérivé d'acide aminé.

Ainsi, le potentiel en DMS mérite d'être étudié, au regard des niveaux de statut azoté et hydrique à l'échelle des moûts, mais également à l'échelle des vins lorsque la fermentation alcoolique a eu lieu. La composition de la matrice et les conditions de conservation doivent aussi être considérées dans l'appréhension des mécanismes de libération. La compréhension de la dynamique de ce pDMS nous permettrait de mieux anticiper sa libération au cours du vieillissement. Ce point nous semble être essentiel dans la connaissance de l'expression des vins vieux.

3.2 Étude de l'origine des composés « menthés » : approche indirecte par essais de libération enzymatique et chimique

3.2.1 Contexte

Les perspectives de la thèse de Picard sur le bouquet de vieillissement (Picard, 2015) étaient axées sur le DMS et les composés à odeur « menthée ». Comme ces composés auraient une origine variétale, la connaissance de leur/s précurseur/s étaient des points à approfondir afin de pouvoir, par la suite, étudier les éléments du terroir ou les pratiques viticoles qui peuvent conditionner l'apparition de ces composés au cours du vieillissement des vins. Pour le DMS, le travail est déjà entamé puisque la littérature apporte des réponses concernant son précurseur. Pour les composés « menthés », il existe peu d'informations sur leur provenance dans les vins. Cette sous-partie sera consacrée à l'étude de l'origine de ces composés.

Dans le bouquet de vieillissement, les notes dites « menthées » sont identifiées surtout comme contributrices à la fraîcheur des vieux vins, leur donnant une « jeunesse apparente » même après plusieurs années de vieillissement. Les études précédentes ont supposé que les composés issus de la dégradation du limonène peuvent contribuer à ces notes (Picard et al., 2016a, 2017a).

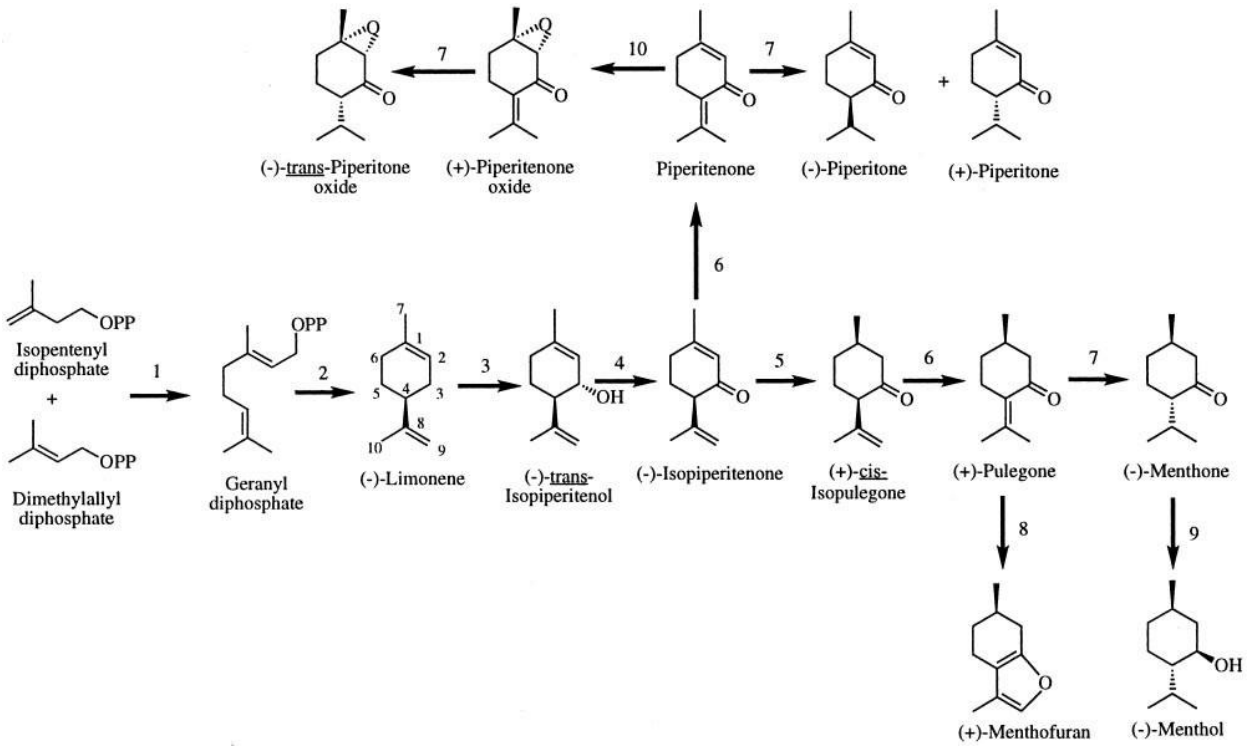


Figure 30. Voie de biosynthèse du limonène et des dérivés à odeur « menthée » proposée par Mahmoud et Croteau (2003).

Le limonène est un monoterpène, possédant deux énantiomères qui ont été retrouvés dans de nombreux végétaux et dérivés de végétaux tels que les fruits (agrumes en particulier), les huiles essentielles de pin et de menthe, le vinaigre, le bois de chêne (Huet, 1991; Dugo et al., 1999; Jordão et al., 2006; Callejón et al., 2009). La biosynthèse du limonène a été décrite dans deux espèces de menthe : *Mentha piperita* et *Mentha spicata* (Ringer et al., 2005). Les travaux de Mahmoud et Croteau (2003) ont montré que le limonène serait issu de la cyclisation et de l'oxydation du geranyldiphosphate. Ensuite, la dégradation de ce limonène conduirait à la formation de composés dont certains, ont été identifiés dans les vins rouges âgés présentant un bouquet de vieillissement (**Figure 30**). Mais, d'autres voies de biotransformation du limonène par des microorganismes ont été décrites et amènent à la formation de la carvone, de l'α-terpinéol et d'autres dérivés hydroxylés (Duetz et al., 2003). De plus, plusieurs monoterpènes « menthés » ont été isolés après dégradation du limonène à 120°C (McGraw et al., 1999). Le limonène est donc au centre de multiples voies de dégradation mais aussi, à l'origine de la production d'une grande diversité de terpènes. C'est la raison pour laquelle ce limonène est désigné comme un « précurseur » des composés à odeur « menthée » dans les vieux vins rouges.

Notre objectif est de comprendre l'existence de précurseur/s des composés à odeur « menthée » issus du limonène. Avant d'arriver à l'identification d'une structure moléculaire du ou des précurseur/s, une approche indirecte par l'utilisation d'une méthode de libération accélérée, similaire à celle utilisée pour le pDMS, pourrait nous permettre de connaître les « composés menthés libérables ». Pour cela, deux

méthodes sont testées : une méthode de libération enzymatique et une méthode de libération chimique par hydrolyse acide.

3.2.2 Essai de libération enzymatique des précurseurs des terpènes à odeur « menthée »

La présence de fonctions énoliques sur les structures de certains des composés terpéniques « menthés » nous invite à chercher s'il existe des précurseurs glycosylés de ces composés. Cette hypothèse a été explorée à l'aide d'une libération enzymatique par l'utilisation du cocktail AR2000. Il s'agit d'une préparation d'enzymes pectolytiques à activités secondaires glycosidases. Ces enzymes sont employées en production de vins pour augmenter les teneurs en arômes variétaux grâce aux activités glycosidases α et β qui transforment les précurseurs terpéniques en terpènes libres. Dans le domaine de la recherche en œnologie, ces enzymes ont été employées pour l'étude de la libération des terpènes aromatiques depuis leurs aglycones (Gunata et al., 1985) ou pour l'étude de précurseurs glycosylés dans le vin et les extraits de bois de chêne (Slaghenaufi et al., 2013). Dans notre cas, ce cocktail enzymatique a été employé pour rechercher l'existence de potentiels glycosides de composés terpéniques à odeur « menthée ». Les conditions d'utilisation de ce cocktail (concentration enzyme et temps d'incubation) ont été d'abord optimisées sur deux essais afin de maximiser les quantités libérées.

Essai 1 : choix de la concentration en enzyme

Même si la recommandation de traitement commercial était indiqué à 0,02 g/L, nous avons décidé de tester également des concentrations plus élevées afin d'évaluer le potentiel du vin à libérer des terpènes « menthés ». Les concentrations de 0,02 ; 5 ; 10 et 20 g/L ont été essayées. Deux témoins ont été ajoutés à l'étude. Le premier témoin (témoin négatif) est un vin sans ajout d'enzyme et sans incubation afin de voir les quantités de dérivés « menthés » initialement présents dans le vin. L'autre témoin (témoin positif) n'a pas reçu d'ajout d'enzyme mais le vin a été incubé comme les autres modalités afin de vérifier la thermosensibilité des composés volatils étudiés. Après incubation et analyse, les dérivés « menthés » ont été quantifiés et les résultats sont présentés sur la **Figure 31**.

Six composés terpéniques à odeur « menthée » ont pu être quantifiés dans un vin de 2019 de l'appellation Puisseguin St-Émilion (témoin -). La carvone, le pulégone et la mintlactone n'était pas quantifiables par la méthode GC-MS/MS (<LOQ). À l'exception du 1,8-cinéole, le témoin positif (qui n'a pas reçu de traitement enzymatique mais qui a subi l'incubation pendant 24 h à 25°C) n'a montré aucune différence significative par rapport au vin non incubé. Il semblerait que tous les composés étudiés, mis à part le 1,8-cinéole, seraient peu sensibles à une température de 25°C. D'autre part, la dose enzymatique commerciale n'a pas montré d'efficacité concernant la libération des composés. Ce n'est qu'à partir des concentrations de 5 g/L que l'on observe des évolutions. De manière surprenante, les

ajouts de 5 et 10 g/L d'enzymes AR2000 montrent une augmentation significative de la concentration du limonène de 140% par rapport aux témoins. De plus, ces mêmes ajouts d'enzymes révèlent une augmentation significative des teneurs en menthone et neomenthylacétate. Pour les autres composés, les concentrations mesurées varient mais de manière non significatives. La dernière concentration de 20 g/L n'a pas permis d'augmentation significative des libérations donc elle n'est pas inclu sur le graphique de résultats (**Figure 31**). D'autre part, il n'existe pas de différences entre 5 g/L et 10 g/L pour les composés dont les teneurs augmentent après traitement.

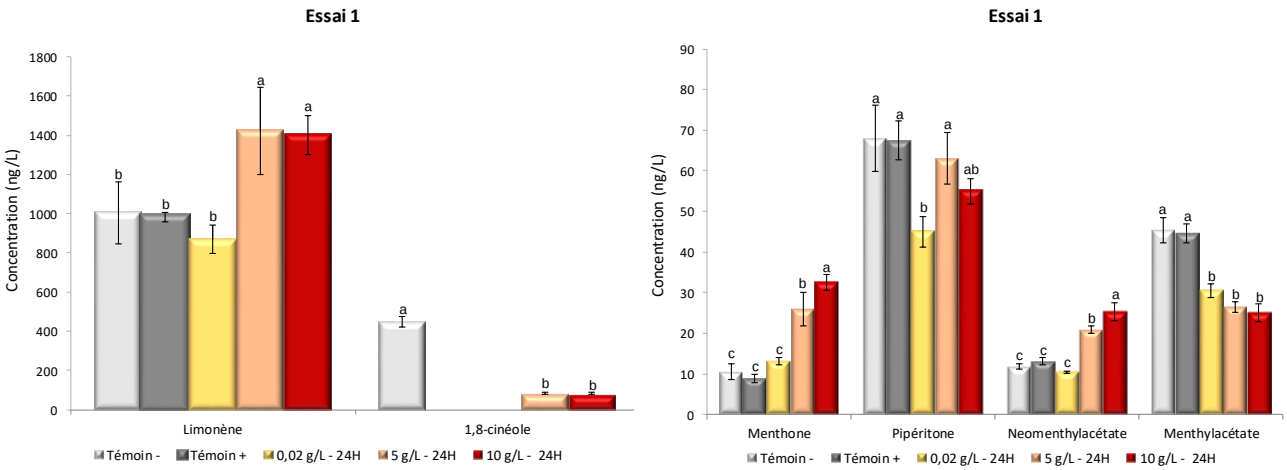


Figure 31. Choix de la concentration d'enzyme adaptée pour libérer les terpènes "menthés" dans le vin (incubation à 25°C pendant 24 h). Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage.

En conclusion de ce premier essai, le choix de 5 g/L est le plus adapté à cet essai. Les résultats nous permettent de penser qu'il existerait un précurseur du limonène capable d'être libéré par les enzymes. Pour les autres composés terpéniques, il ne semblerait pas exister de réserve de glycosides même pour ceux qui présentent une fonction énol. Cependant, des recherches supplémentaires auraient dû confirmer l'observation de la libération du limonène et avancer dans l'identification du précurseur. Malheureusement, ces travaux ont été interrompus lors du confinement de Mars 2020.

Essai 2 : choix du temps d'incubation

Le deuxième essai consiste à optimiser le temps d'incubation. Cet essai a été effectué sur le même vin après le choix de la concentration d'enzyme soit 5 g/L (**Figure 31** – histogrammes oranges). Trois temps d'incubation ont été testés : 24 h (classique), 48 h et 1 semaine. Les temps d'incubation sont comparés au témoin (vin sans enzyme et sans incubation). Les résultats sont présentés sur la **Figure 32**.

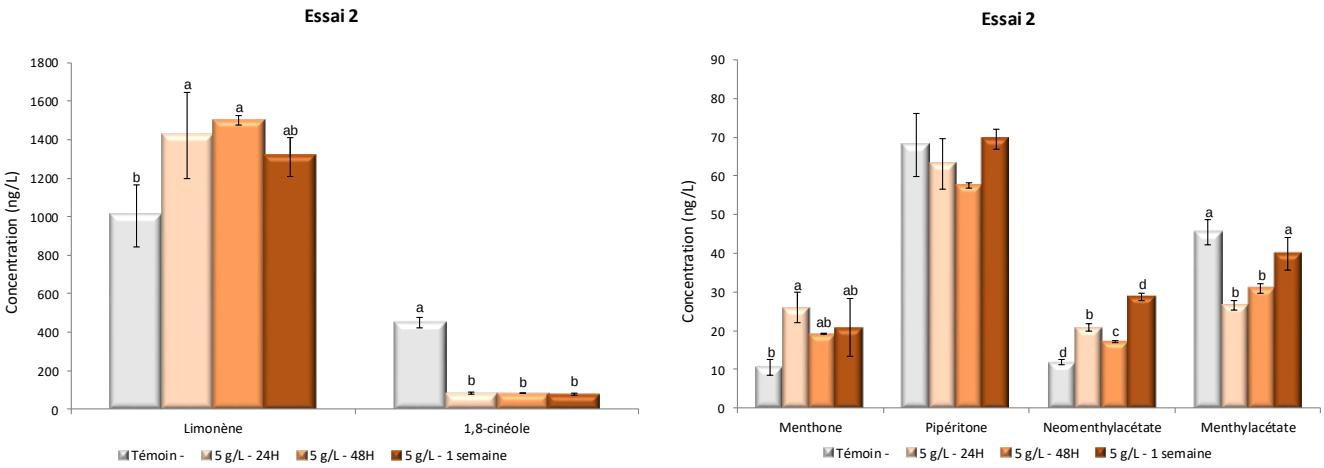


Figure 32. Choix de la température d'incubation optimale pour libérer les terpènes à odeur "menthée" dans les vins (5 g/L d'enzymes et incubation à 25°C). Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage.

Pour tous les composés sauf le 1,8-cinéole, la pipéritone et le menthylacétate, l'incubation sous condition enzymatique aurait un effet positif sur la libération des composés. Cependant, nous observons une diminution des concentrations des composés lorsque l'incubation est prolongée, à l'exception cependant du neomenthylacétate. Pour les 3 composés sur lesquels l'action enzymatique aurait un effet (limonène, menthone, néomenthylacétate), chaque modalité de temps d'incubation montre une différence significative par rapport aux témoins non incubés. En conclusion, le temps de 24 h apparaît comme un compromis acceptable pour obtenir suffisamment de quantités libérées en un moindre temps d'analyse.

Essai 3 : effet de la température d'incubation

La température de réaction est une notion fondamentale en chimie. En œnologie, les effets défavorables de la chaleur sur la qualité des vins sont relativement bien décrits (Jackson, 2016a). Nous avons voulu tester en parallèle des deux précédents essais enzymatiques, l'effet d'une température très faible (4°C) sur le comportement des composés par rapport à l'incubation à la température de 25°C. Pour cela, 10 g/L d'enzyme AR2000 ont été ajoutés au vin et celui-ci a subi une incubation à 4°C au réfrigérateur et à 25°C en chambre « thermostatée » pendant 24 h ; 48 h et 1 semaine. Un vin témoin, qui n'a pas subi d'ajout d'enzyme, ni d'incubation, a été analysé le même jour que les deux autres modalités. Il permet de réaliser une comparaison entre les modalités incubées et non incubées. Seuls les résultats concernant l'incubation d'une semaine sont présentés dans la **Figure 33**, afin de pouvoir discuter du comportement des composés.

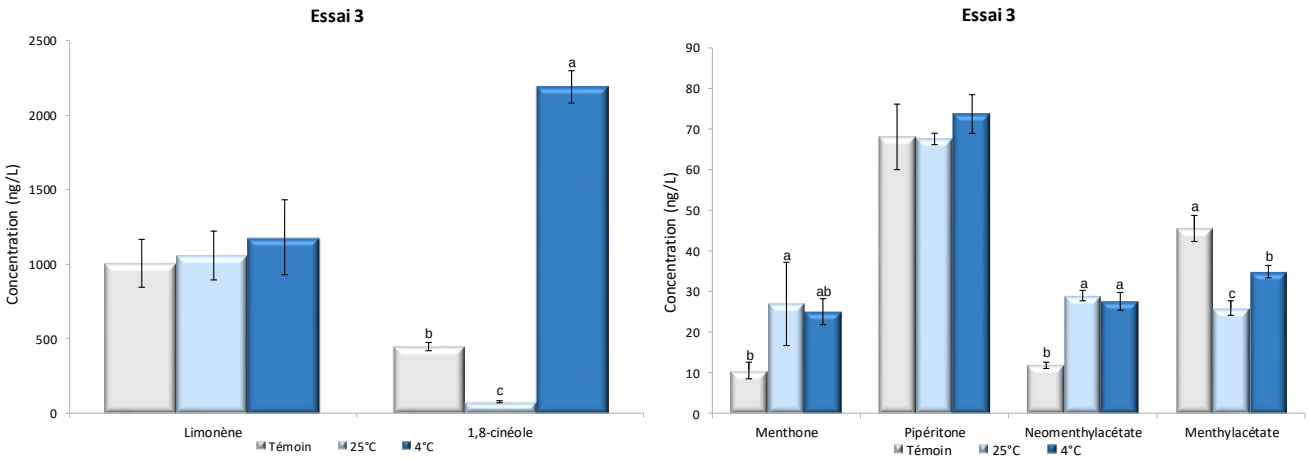


Figure 33. Comparaison des teneurs en terpènes "menthés" entre l'incubation à 4°C et 25°C pendant une semaine (ajout de 10 g/L d'enzymes). Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage.

On remarque que l'incubation à 25°C ou 4°C pendant une semaine n'a aucun effet significatif sur le limonène et la pipéritone. Concernant la menthone, le neomenthylacétate et le menthylacétate, l'effet est minime sur la libération de leurs teneurs en fonction de la température. En revanche, une forte augmentation du 1,8-cinéole est observée lorsque la modalité est incubée à 4°C. En 48 h, la concentration avait augmentée de 1,9 fois par rapport au témoin (résultats non présentés) et sur une semaine, la tendance s'est accentuée. La gestion de l'oxygène dans les échantillons n'ayant pas été maîtrisée pour cet essai, celui-ci mériterait d'être reconduit en réplicats et en « inertant » le milieu afin d'observer si cette tendance est toujours observée. En effet, de nombreuses réactions d'oxydation peuvent conduire à la formation de composés volatils. Même si le froid atténue ce phénomène, il s'avère être quand même important à prendre en compte. Ce travail faisait aussi partie des essais envisagés mais arrêtés par le confinement de Mars 2020.

En résumé, l'addition d'enzymes glycosidases dans un vin jeune conduit à une augmentation de la concentration de limonène (**Figure 31**). Cela impliquerait alors la présence de composés glycosylés dans le vin mais, étant donné l'absence de la fonction oxygénée dans la structure du limonène, cela suggère l'existence d'un intermédiaire qui, à ce jour, n'est pas connu. Les teneurs en menthone et neomenthylacétate augmentent également lorsque l'on ajoute des enzymes. Cependant, le 1,8-cinéole et le mentylacétate sont dégradés en présence d'enzyme (**Figure 31**) si bien, que le 1,8-cinéole se retrouve à des concentrations proches du seuil de quantification de la méthode. Les teneurs en menthylacétate s'élèvent lorsque le temps d'incubation augmente et celles-ci se rapprochent des concentrations mesurées dans le témoin (**Figure 32**). L'ajout d'enzyme pourrait affecter les fonctions esters des composés. De plus, la concentration de la pipéritone a diminué initialement puis a augmenté de nouveau au bout d'une semaine (**Figure 32**). Cela pourrait impliquer une dégradation de ce composé au départ

puis une nouvelle formation de celui-ci issu de la dégradation du limonène selon la voie proposée par Mahmoud et Croteau (2003) (**Figure 30**).

Il est important de noter que les préparations d'enzymes à activité glycosidases commerciales ne sont pas parfaitement caractérisées et il est possible qu'elles contiennent aussi des oxydases (Sefton and Williams, 1991). Un recours à des préparations d'enzymes purifiées pourrait être utile pour mieux caractériser l'effet glycosidique.

De plus, une température d'incubation de 4°C a révélé l'augmentation des teneurs en 1,8-cinéole de manière assez importante. En effet, il semblerait que les enzymes n'aient aucun impact dans cet essai puisque d'une part, la température idéale de l'activité des enzymes glycosidiques se situent entre 10 à 50°C et d'autre part, il s'est avéré qu'à 25°C, on observait une diminution du 1,8-cinéole par rapport aux concentrations mesurées dans le vin témoin, le rendant plutôt thermosensible. D'un point de vue œnologique, l'effet de traitement de stabilisation tartrique au froid sur la libération des terpènes « menthés » pendant la production de vin pourrait-être intéressant à étudier.

3.2.3 Essai de libération chimique des précurseurs des terpènes à odeur « menthée »

La libération enzymatique grâce à l'utilisation du cocktail enzymatique AR2000 a permis d'écarter en partie l'hypothèse de la présence de quantités importantes de précurseurs glycosylés des composés à odeur « menthés ». Au pH du vin, les composés glycosylés subissent une hydrolyse acide et spontanée, capable de libérer les aglycones (Sefton et al., 1993; Sefton, 1998; Ugliano et al., 2006). Donc, l'hypothèse de la présence d'autres formes de précurseurs libérables au cours du vieillissement du vin, en conditions acides, doivent être explorées. C'est pourquoi, nous avons également étudié l'effet de l'hydrolyse acide sur la libération de nos composés d'intérêts en essayant d'abord d'optimiser le temps d'incubation. La méthode d'hydrolyse acide a largement été utilisée dans le domaine des arômes pour libérer des composés volatils de leurs précurseurs glycosylés (Gunata et al., 1985; Jesús Ibarz et al., 2006). En particulier, Jesús Ibarz et al. (2006) ont montré que l'hydrolyse acide des moûts de raisins se rapprochait du vieillissement modèle car la composition des substances volatiles étaient proches de celles obtenues par la technique du vieillissement modèle.

Tout d'abord, un essai d'hydrolyse a été effectué sur le vin dont le pH a été réduit à 2,5. Des incubations de 60 ; 90 ; 120 ou 180 minutes à 95°C ont été testées. Deux témoins ont été inclus dans l'expérience. Un témoin négatif, qui est finalement le vin seul sans modification du pH (pH vin initial = 3,7 ; sans incubation) et un témoin positif, qui est le vin sans modification de pH subissant une incubation afin de prendre en compte la thermosensibilité des composés. Les résultats sont présentés dans la **Figure 34**.

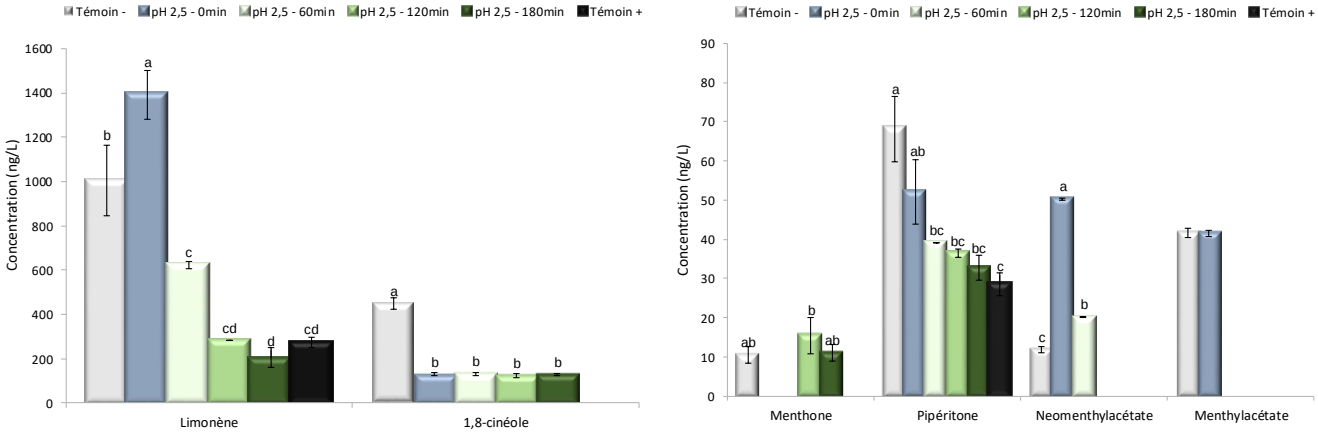


Figure 34. Essai d'hydrolyse acide dans le vin à pH = 2,5 et 95°C avec différents temps d'incubation et dosage des composés « menthés » après hydrolyse. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage.

Le témoin négatif indique les concentrations des composés à odeur « menthée » initialement présentes dans le vin. Ensuite, après abaissement du pH par l'acide chlorhydrique mais sans incubation, on observe une augmentation de la teneur en limonène et en néomenthylacétate (**Figure 34**). Lorsque l'incubation à 95°C a lieu, on observe une diminution progressive du limonène et de tous les autres composés. Il y a même une disparition des deux acétates. Il faut noter également le comportement de l'échantillon « témoin + », qui a subi l'incubation de 180 min mais sans changer de pH. L'effet de la chaleur sur les composés a donc été pris en compte par cet échantillon. Au bout de 180 min, la concentration des composés est toujours faible. Dans ce cas-là, il semblerait que l'hydrolyse acide ne modifie pas les composés. La diminution de leur teneur ne peut donc pas être directement attribuée à l'effet de l'hydrolyse et il semblerait que l'action de la chaleur implique plus de dégradation que de libération. De plus, le fait que nous utilisions une méthode de dosage ciblée de quelques composés terpéniques, les produits finaux formés à la suite de cette expérience n'ont pas pu être déterminés. Il aurait été intéressant d'utiliser une méthode d'analyse non ciblée, pour étudier les dynamiques des différents composés. Cette méthode était en cours de développement en Mars 2020. Par ce premier essai, il semblerait que l'hydrolyse acide sur vin révèle de multiples voies de dégradation et potentiellement la participation d'autres composants du vin.

Un essai similaire a été effectué en simplifiant la matrice et en réduisant les temps d'incubation. Cela permettait, lors de l'hydrolyse, d'observer les voies privilégiées par les composés à partir du limonène. Cet essai permettait aussi d'identifier les liens entre les composés. L'objectif est de vérifier l'existence d'une augmentation des composés dans les premières minutes de la réaction. Pour cela, un essai en solution modèle a été effectué en ajoutant seulement une dose de limonène prédéfinie et en lui affectant une hydrolyse acide à 95°C pendant 15, 30, 45 ou 60 minutes. Un échantillon qui n'a pas été incubé a été introduit dans l'expérience. Les résultats sont présentés dans la **Figure 35**.

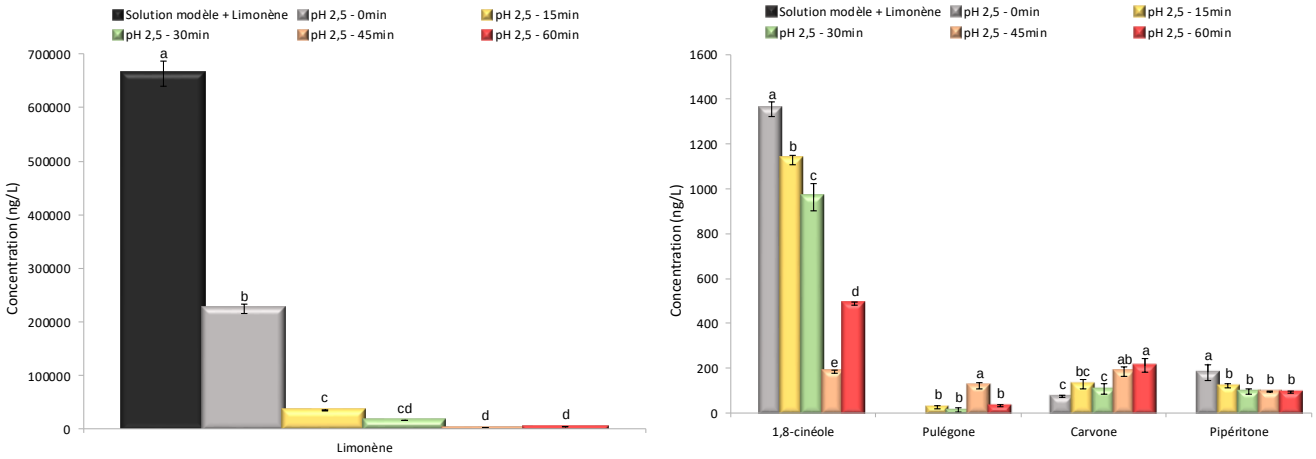


Figure 35. Hydrolyse acide à pH = 2,5 du limonène pur en solution modèle (incubation à 95°C pendant différentes modalités de temps). Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage.

Lorsque le pH de la solution modèle a été diminué de 3,5 à 2,5, nous avons remarqué une première dégradation du limonène mais aussi l'apparition des composés d'intérêts. Comme l'avait suggéré le résultat de l'expérience sur le vin, l'incubation à 95°C a, par la suite, entraîné une diminution du limonène de manière significative, mais aussi de tous les autres composés à l'exception de la carvone. Cette expérience soutient l'hypothèse que certains composés terpéniques à odeur « menthée » sont issus de la dégradation du limonène comme l'avaient décrit Mahmoud et Croteau (2003). En revanche, le 1,8-cinéole et la carvone n'étaient pas décrits dans cette voie de biosynthèse. Celle-ci doit être révisée. À première vue, il n'existe pas de température privilégiée. Mais, la dégradation du limonène entraînerait à la fois la formation puis la dégradation des composés formés comme si l'équilibre est déplacé à chaque instant. Cette stratégie d'hydrolyse en solution modèle doit être poursuivie et répétée afin de comprendre les interactions entre les molécules ainsi que les dynamiques de leurs concentrations. Enfin, la matrice de ces solutions modèles pourra être complexifiée pas à pas par l'addition d'autres composantes mimant les conditions physico-chimiques du vin en cours de garde.

En résumé, en solution modèle, ce premier essai de libération chimique est encourageant, mais il doit être affiné grâce à d'autres analyses afin de comprendre les cinétiques d'évolution. De plus, la température doit être maîtrisée afin de ne pas induire la dégradation des composés ou le déplacement trop rapide d'un équilibre chimique par simple apport de chaleur. Un plan d'expérience précis devra être élaboré dans le futur afin de mener à bien ces essais. Ces résultats devraient nous amener à nous interroger sur l'influence des conditions de température sur la qualité de la conservation des vins de garde. Il s'agit là d'un point fondamental dans la maîtrise de la qualité des grands vins perçue par le consommateur.

3.2.4 Réflexions et perspectives sur l'étude de l'origine des molécules à odeur « menthée »

Ces premières observations méritent d'être confirmées à l'issus d'expériences menées sur plusieurs vins et en maîtrisant les cinétiques d'évolution. L'utilisation du limonène marqué par le ^{13}C ou le ^{2}H (D) pourrait être intéressant pour cibler les réactions et les mécanismes d'évolution à partir de ce composé. Mais ces premiers résultats montrent qu'il existerait potentiellement des doubles voies de dégradation/production de ces composés et que leur présence résulte d'un équilibre complexe. À la lumière de la connaissance œnologique du bouquet de vieillissement des vins qui, lui-même est le résultat d'un subtil équilibre, il est probable que ces molécules d'intérêt soient au centre de réactions elles-mêmes multiples.

Il faut toutefois préciser que cette étude est menée sur des vins jeunes. Cela ne reflète donc pas la quantité de glycosides présents sur le raisin car les levures sont capables de libérer les terpènes depuis leur forme glycosylées grâce à leur activité enzymatique (Ugliano et al., 2006). Par exemple, il est décrit que le limonène peut être partiellement converti par les levures pendant la fermentation alcoolique grâce à des activités catalytiques. Les levures avec une forte capacité d'hydroxylation peuvent réduire les quantités de limonène qui peut agir ensuite, pendant le vieillissement et par le biais de réarrangements acides catalysés, comme précurseur à la formation du 1,8-cinéole (Fariña et al., 2005; Slaghenaufi et al., 2020). De plus, les travaux de Slaghenaufi et al. (2020) ont montré que la majorité des terpènes avec un groupe fonctionnel hydroxyle ainsi que le limonène, seraient les substrats majeurs pour les transformations pendant la fermentation alcoolique, par des mécanismes des réactions catalytiques (réduction, oxydation, acétylation, hydroxylation). Ils ont aussi mis en évidence la perte des composés par sorption sur les parois cellulaires des levures. Donc, il serait intéressant de pouvoir reproduire ces essais sur moûts afin de prendre en compte le potentiel de libération des composés menthés sur raisins et ainsi le mettre en relation avec celui identifié sur vin jeune. Dans ce cas, il nous faut adapter la méthode de dosage de suivi de ces composés terpéniques « menthés » à la matrice « moût ».

La variabilité des résultats obtenus entre le vin et la solution modèle de l'essai de libération chimique suggère que d'autres composés non quantifiés par la méthode SPME-GC-MS/MS jouent un rôle important dans la dynamique d'évolution des molécules. Jusqu'à présent, l'apparition de ces composés dans les vins étaient majoritairement associés à la dégradation du limonène par la voie proposée par Mahmoud et Croteau (2003). Cependant, au regard des premiers résultats, un retour à l'étude de la littérature a été nécessaire. Une modification de la voie de Mahmoud et Croteau pourrait être proposée. Les voies métaboliques qui nous semblent intéressantes à explorer sont :

- la formation du limonène par isomérisation de l'α-pinène (Comelli et al., 2005) ;
- la formation de terpènes par le cation α-terpinyle (en amont du limonène) sans passer par l'intermédiaire du limonène (Ramak et al., 2014) ;

- la cyclisation du linalol en α-terpinéol en milieu acide agissant en tant que précurseur du limonène (Slaghenaufi and Ugliano, 2018) ;
- la formation du 1,8-cinéole par réarrangements acides catalysés issus du limonène lors du vieillissement des vins (Fariña et al., 2005) ;
- la formation de la carvone par thermodégradation du limonène (McGraw et al., 1999) ;
- la libération de terpènes par *Saccharomyces cerevisiae* (Fernández-González and Di Stefano, 2004) en l'absence de limonène suggérant une voie alternative à la production des terpènes ;
- la voie de dégradation du limonène par époxydation grâce aux bactéries *Rhodococcus* (van der Werf et al., 1999).

Après revisite de la littérature, le développement d'une nouvelle méthode de dosage des terpènes par SPME-GC-MS avait débuté au printemps 2020 afin de pouvoir étudier plus spécifiquement les dynamiques des composés. Elle se basait sur la méthode déjà publiée par Slaghenaufi et Ugliano, (2018) pour le dosage des terpènes des vins de Valpolicella. Quatre composés terpéniques ont été sélectionnés pour leur contribution potentielle à la libération des composés « menthés ». L'α-pinène et β-pinène car ils agiraient potentiellement comme précurseurs de composés terpéniques « menthés » retrouvés dans les vins (Vespermann et al., 2017). Ces composés peuvent été libérés par des souches de *Saccharomyces cerevisiae* dans les vins de mûre (Kim and Park, 2017). L'α-terpinéol paraît intéressant, puisqu'il serait engagé dans des voies conduisant aux composés d'intérêts. De plus, de nombreux microorganismes seraient capables d'effectuer la biotransformation de l'α-pinène et du limonène en α-terpinéol (Rottava et al., 2010). Le dihydrocarvéol était proposé comme produit de transformation du carvone par *Saccharomyces cerevisiae* (Khor and Uzir, 2011). En complément, Slaghenaufi et al. (2020) expliquent que le carvéol serait un précurseur du carvone mais qu'il n'aurait jamais été détecté dans le vin, seulement dans des « vins » d'oranges (riches en limonène) (Schreier et al., 1977). Le développement de la méthode a débuté en ce début d'année 2020 mais n'a pas pu être poursuivi à cause de la crise du covid-19. Elle sera finalement disponible au laboratoire à la fin de l'année 2020. Ainsi, les premières analyses concernant nos perspectives n'ont pas eu lieu à ce jour. Cependant, ces prémices de travail sur la question de l'origine des composés à « odeur menthée » dans les vieux vins a donné lieu à la préparation d'un article de bibliographie (review) qui sera prochainement finalisé (Goto et al., en préparation). Par la suite, il serait intéressant de poursuivre ces travaux afin de comprendre la formation (au cours du vieillissement), des molécules contributrices aux notes « fraîches » du bouquet de vieillissement vins rouges de Bordeaux.

D'autre part, nos résultats ont montré que les proportions de certains composés pourraient aussi être liées aux conditions de conservation. La conservation des vins est empiriquement décrite mais, à ce jour, il n'existe pas réellement de travaux qui déterminent les conditions idéales de conservation des vins et notamment en termes de température. *Quelle est la température idéale pour que les vins vieillissent dans les meilleures conditions ?* Cette question est souvent posée par les amateurs de vin qui prennent une

particulière attention à vouloir conserver leurs bonnes bouteilles dans des endroits adéquats à la longue garde des vins. De plus, la thermosensibilité du limonène, du 1,8-cinéole et des autres composés observés dans les vins témoins, remet en question le processus de vieillissement accéléré à haute température pour prédire les évolutions des composés aromatiques dans les vins. Il est possible que la chauffe des échantillons stimule plutôt des conditions de dégradation des composés aromatiques. De ce fait, au regard de la dynamique des molécules et de l'effet que peut avoir le paramètre température sur la formation de composés bénéfiques à la conservation de la fraîcheur des vins, il serait intéressant de bâtir un plan expérimental permettant d'étudier cette question. Un travail beaucoup plus élaboré sur les températures de garde des vins doit être envisagé. Cela aurait un intérêt majeur pour la mise en valeur des vins.

4. CONCLUSIONS

Les outils de prédiction de potentiel de vieillissement des vins par le biais de la libération forcée des molécules d'intérêt sont des outils intéressants pour prédire l'évolution plus ou moins qualitative des vins de garde. L'étude du potentiel en DMS (pDMS) des vins nous permet aujourd'hui de pouvoir comparer les réserves en DMS de nombreux vins et de pouvoir confronter les paramètres de terroir à cet indicateur. Maintenant, la caractérisation précise des composés impliqués dans le pDMS ainsi que son suivi au cours de l'évolution du vin serait nécessaire.

Ensuite, les études concernant les composés à odeur « menthée » dans les vieux vins ont conduit à des résultats qui, finalement, ne permettent pas de répondre l'objectif initial qui était de déterminer un « potentiel en composés menthés libérables ». Aujourd'hui, nous sommes conscients que l'apparition de ces composés dans les vins ne peut pas être attribuée à un seul et unique précurseur, ni même à une voie métabolique majeure. L'évolution de « la fraîcheur » remarquée dans les vins présentant un bouquet de vieillissement est complexe, avec des interactions potentielles entre les terpènes ou d'autres composés du vin, les conduisant peut-être à des effets d'interactions perceptives entre les composés. Cela mériterait également d'être étudié. Ce sujet a bien été entrepris grâce au stage de Sera Goto mais, malheureusement, la crise du covid-19 nous a obligé à arrêter les travaux laissant de nouvelles questions concernant le conditionnement du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux.

Conclusion générale partie 2

Naissance et conservation des molécules faisant partie du bouquet de vieillissement : contributions du terroir et du millésime

***

Cette deuxième partie nous a permis d'approfondir les connaissances sur les liens entre les indicateurs du terroir, les pratiques œnologiques de l'assemblage et la composition des vins vieux issus de différents crus du vignoble bordelais. Elle nous a aussi permis de nous concentrer sur l'étude des précurseurs de certaines molécules dont la présence dans les vieux vins rouges de Bordeaux était en lien avec l'expression du bouquet (lors de la précédente thèse sur le sujet). Le **Schéma bilan 2** décrit les principales conclusions de cette deuxième partie.

Un regard vers le passé a été porté dans le Chapitre 2 de cette partie. Premièrement, grâce à l'analyse du $\delta^{13}C$ apparent dans les vieux vins, le reflet du millésime au travers des années et pour les différentes « verticales » de vins, a pu être observé. Ensuite, les notes de typicité et les teneurs en composés volatils mesurés (présentés dans la Partie 1) ont pu être confrontées aux données hydriques de ces mêmes vins. Les résultats ont confirmé qu'une contrainte hydrique favoriserait la typicité du bouquet de vieillissement des vins. Ces résultats rejoignent ceux obtenus par Picard sur d'autres vins de la région (Picard, 2015; Picard et al., 2017b). Notre travail démontre que le statut hydrique module la formation des composés volatils lors du vieillissement. La diversité des sols, des cépages et des conditions climatiques des millésimes fait que les vins des crus étudiés s'expriment différemment en fonction des situations hydriques. Ces liens ne sont pas uniques, ce qui implique que le terroir et le millésime doivent être considérés dans leur entièreté pour permettre l'étude des évolutions de vins. Deuxièmement, les composés quantifiés dans les vieux vins ont pu être corrélés au pourcentage de cépage sélectionné dans les assemblages de chaque vin étudié. Cette pratique influence la composition des vins vieux et participe à la complexité chimique et aromatique du bouquet de vieillissement. L'importance de cépages tels que le petit verdot (pour les vins de rive gauche) et le cabernet franc (pour les vins de rive droite) a été soulignée.

Un regard vers le futur a été porté et transcrit dans le Chapitre 3. Premièrement, un point sur la libération du DMS depuis son précurseur a été effectué pour les vins de l'étude et en tenant compte des âges. L'outil de prédiction du DMS (pDMS) est essentiel pour connaître les réserves en DMS des vins, à un instant choisi de leur vieillissement. Deuxièmement, un travail a été entamé sur la connaissance des précurseurs des composés à odeur « menthés » dans les vins. Les résultats ont montré que ces composés ne proviennent pas d'un seul et unique précurseur, ni même d'une voie métabolique majeure. Un « potentiel en composés menthés libérables » n'a pas pu être mis en évidence mais, à ce jour, de nouvelles interrogations sont posées quant à l'origine de ces composés.

Cette deuxième partie constitue un tremplin entre l'axe de recherche réalisé sur les vins vieux et le nouvel axe de recherche qui concerne l'étude des précurseurs des molécules du bouquet dans les vins jeunes ou les moûts. Les liens entre les teneurs des précurseurs, les paramètres du terroir et les mécanismes de maturation pourront être étudiés et les résultats pourront constituer des premières réponses au déterminisme du bouquet de vieillissement dans la jeunesse du vin.

Schéma bilan 2. Principales conclusions obtenues à l'issue de l'étude des contributions du terroir, du millésime et des pratiques œnologiques sur l'expression du bouquet de vieillissement.

Troisième partie

***

LE SULFURE DE DIMÉTHYLE : MOLÉCULE CENTRALE DU VIEILLISSEMENT QUALITATIF DES VINS ROUGES DE BORDEAUX

Chapitre 1. État de l'art : le sulfure de diméthyle

Pendant plusieurs décennies, la recherche en œnologie s'est intéressée à l'étude de marqueurs moléculaires à l'origine de l'arôme des vins. Le mot « marqueur » peut faire référence à des composés volatils qui conditionnent réellement l'arôme des vins par leur odeur. Par exemple, ce fût le cas pour les thiols volatils, véritables marqueurs de l'arôme des vins de sauvignon blanc ou encore les terpènes, marqueurs historiques de l'arôme des vins issus de cépages muscatés. Aujourd'hui, les molécules les plus abondantes ont été mises en évidence. L'identification de composés marqueurs devient alors plus difficile. Cependant, les techniques analytiques ont évolué depuis quelques années, ce qui a permis d'identifier de nombreux composés dans les vins. Les couplages GC-O et GC-MS ont été déterminants, mais ne tiennent pas compte des effets de la matrice vin. C'est alors qu'ils ne permettent l'accès qu'à l'identification de molécules « clé ». Des techniques complémentaires de fractionnement par HPLC, puis de reconstitutions aromatiques, permettent d'identifier les composantes du vin encore inconnues tout en tenant compte des effets sensoriels imposés par une partie de la matrice. De plus, l'analyse de la composition du vin a souvent été appliquée à la classification des arômes en catégories chronologiques qui, finalement, suivent les étapes de la vie du vin : arômes primaires (issus du raisins), arômes secondaires (issus des fermentations) et arômes tertiaires (issus des réactions chimiques lors de l'élevage et du vieillissement). L'étude des composés du vieillissement implique de porter un intérêt aux molécules qui se trouvent dans les vins vieux mais qui peuvent prendre naissance dans le raisin. Chaque composé détecté dans le bouquet est le résultat d'évolution de molécules tout au long de la vie du vin. C'est le cas du DMS.

1. CONTRIBUTIONS SENSORIELLE DU DMS À L'ARÔME DES VINS

A l'origine, le DMS était jugé comme une composante négative à l'arôme des vins puisqu'il était à l'origine de notes de réduction perceptibles à la dégustation. Cependant, ces notes désagréables de « foin » ou « d'olive verte » n'étaient perçue lors du vieillissement que lorsque le DMS était présent avec de fortes concentrations (Marais, 1979; Goto and Takamuro, 1987; Segurel et al., 2004; Dagan, 2006). Il est à noter que les méthodes analytiques de l'époque n'étaient pas aussi sensibles qu'aujourd'hui et que les limites de détection et de quantification n'étaient souvent pas indiquées. Cela rendait l'identification des composés aux faibles concentrations délicate voire impossible. De plus, sa présence dans les vins pouvait être jugée de différente manière en fonction du type de matrice. Par exemple, la présence de DMS dans les vins de cabernet-sauvignon australiens était jugée comme

positive, tandis que la présence de DMS dans les vins de pinot noir néo-zélandais était jugé comme négative pour leur arôme (Spedding and Raut, 1982; de Mora et al., 1987). Aujourd'hui, sa contribution sensorielle est revisitée et son comportement apparaît comme multivalent. Le fait qu'il soit présent dans les vins à des concentrations comprises entre 10 et 160 µg/L (Mestres et al., 2000a), ouvre la voie à une large palette d'expressions aromatiques. Les descripteurs du DMS proposés dans les vins semblent toujours corrélés à une complexité sensorielle (de Mora et al., 1987; Anocibar Beloqui, 1998; Segurel et al., 2004). Les travaux de Segurel et al. (2004) ont montré que l'ajout de 100 µg/L de DMS dans les vins de syrah induisait au premier nez, une augmentation de la note « truffe », ce qui participait à la complexité aromatique de ces vins et non à leur défaut. C'est d'ailleurs par ses notes de « truffe » et de « sous-bois » que le DMS est reconnu aujourd'hui. Ces odeurs ont été identifiées dans des vins sélectionnés comme les plus représentatifs du bouquet de vieillissement bordelais. Ces deux descripteurs ont été identifiés parmi les marqueurs majeurs du vieillissement qualitatif des vins rouges de Bordeaux (Picard, 2015).

De nombreuses études montrent que le DMS joue un rôle d'exhausteur d'arômes et il a souvent été décrit comme étant impliqué dans la composante fruitée des vins. Cette action a été démontrée dans de nombreux vins de matrices différentes. Selon Anocibar Beloqui et al. (1996), l'ajout de DMS au-dessus de son seuil de détection apporterait aux vins jeunes des notes de « cassis » et de « framboise ». Malheureusement, cet auteur n'a pas eu l'occasion de consolider ses intuitions par des expériences d'analyses sensorielles dont les résultats se seraient immanquablement avérés positifs. Ces observations ont été faites également par Segurel et al. (2004) dans des vins de grenache et syrah de la vallée du Rhône. Plus tard, Escudero et al. (2007) constatent que, dans les vins espagnols, une faible quantité de DMS (10 µL) non perceptible dans un vin désaromatisé, joue un rôle en tant qu'exhausteur de l'arôme fruité de ces vins en leur conférant des notes « ″sucrées″-fruitées » et « olive verte » pour des mélanges perçus plus complexes. San-Juan et al. (2011) rejoignent les observations précédentes en démontrant, que le DMS seul sentirait la truffe mais qu'en présence de hexan-1-ol dans les vins, cette note devient un peu « herbacée » voire « chou » lorsque le méthanethiol rentre en compte.
Récemment, Lytra et al. (2014b) ont étudié l'impact du DMS sur l'arôme fruité des vins en présence de 12 esters. Il s'avère que la présence du DMS augmente les nuances de « fruits noirs » et « cassis » des vins, soulignant son impact qualitatif sur l'expression fruitée. Une autre étude complémentaire sur les interactions perceptives a permis de démontrer l'action pré-sensorielle du DMS avec l'observation d'une augmentation des teneurs des 12 esters dans l'espace de tête (Cameleyre, 2017).

Le DMS est un composé soufré dit « léger » (point d'ébullition égal à 37°C sous 1 bar), sa volatilité est élevée et cela implique que la contribution olfactive du DMS à l'expression aromatique des vins est tributaire du mode de service et de la temporalité de la dégustation. De grandes différences aromatiques auraient été perçues entre les vins additionnés de DMS puis examinés avec et sans rotation du vin dans

le verre. De ce fait, il peut également agir en tant qu'exhausteur du « fruité » mais aussi suppresseur des notes aromatiques « truffe », « sous-bois », « cassis », « végétal », « olive noire » (Segurel et al., 2004). De plus, des travaux récents ont étudié la dynamique de libération de ce composé au cours de la dégustation et ses conséquences sur les changements de perception du « fruité » des vins. Le DMS se comporte comme exhausteur de notes aromatiques, puis inhibiteur, de façon successive et répétée alternativement. Par ce comportement, il est décrit que le DMS confèrerait au vin un « polymorphisme sensoriel », qui expliquerait sa forte corrélation avec le niveau de complexité des vins (Lytra et al., 2016). Ces observations nous permettent de supposer qu'il existerait des mécanismes d'interaction avec la matrice volatile, mais aussi avec la matrice non volatile du vin. Cette hypothèse a déjà été démontrée dans le cas des thiols volatils et des esters qui interagiraient avec les composés phénoliques du vin et notamment la catéchine (Dufour and Bayonove, 1999; Nikolantonaki et al., 2010, 2012; Lorrain et al., 2013).

Finalement, par ses multiples effets sensoriels et sa contribution importante du DMS au bouquet des vins, l'étude de son origine et des paramètres pouvant moduler sa concentration, depuis le raisin jusqu'à la conservation du vin, nous paraît primordial.

2. ÉTUDE DE L'ORIGINE DU DMS

2.1 Précurseurs inodores du DMS et outils de prédiction du vieillissement

Au départ, le DMS a bien été étudié dans la bière, puisque ses teneurs dans cette boisson sont importantes et bien au-dessus de son seuil de perception. De nombreux travaux ont pu mettre en évidence le fait que la *S*-méthylméthionine (SMM) et le diméthylsulfoxide (DMSO), présents dans le malt, seraient les précurseurs majoritaires du DMS dans la bière blonde (White and Wainwright, 1976; Hysert et al., 1979; Anness and Bamforth, 1982). Dans le processus de fabrication de la bière, il est noté que le DMS serait formé par dégradation thermique de la SMM au cours du séchage du malt et au cours de son brassage à 60°C. La partie du DMS qui est ensuite oxydée en DMSO sera réduite à nouveau en DMS par les levures au cours de la fermentation alcoolique. Il est couramment utilisé, dans l'industrie de la bière, une technique d'hydrolyse basique à chaud de la SMM afin de permettre de définir les teneurs potentielles en DMS dans les différentes matières premières (White and Wainwright, 1976; Anness and Bamforth, 1982; Peaper and Jones, 1994). Le DMSO, lui, n'a pas été identifié dans les vins (Anocibar Beloqui, 1998). Dans le fromage, il est prouvé que la SMM peut-être dégradée par les microorganismes à 25°C pour former du DMS (Spinnler et al., 2001).

Dans le vin, la capacité des levures à libérer du DMS pendant la fermentation à partir d'acides aminés ou de dérivés d'acides aminés a été démontrée (Schreier and Jennings, 1979; de Mora et al., 1986, 1993; Anocibar Beloqui, 1998). Cependant, la grande volatilité du DMS (point d'ébullition égal à 37°C sous 1 bar) a conduit des chercheurs à considérer que le DMS est largement éliminé du vin au cours de la phase de fermentation alcoolique, ce qui justifie que les teneurs en DMS sur vins jeunes soient, en général, très faibles et en dessous de leur limite de détection (de Mora et al., 1986; Anocibar Beloqui, 1998). C'est lors du vieillissement du vin, que les teneurs en DMS augmentent de nouveau. Cela implique qu'il existe dans le vin, un ou des précurseurs capables de libérer du DMS par voie chimique pendant le vieillissement.

Tout comme dans la bière, le même système d'hydrolyse à chaud à pH alcalin a été testé par Swan (2000) et lui a permis de définir « un potentiel en DMS » (pDMS), en suggérant que les teneurs libérées de DMS pourraient simuler la libération du DMS pendant le stockage du vin. Plus tard, cette méthodologie a pu être testée sur des jus et des vins de grenache et syrah de la vallée du Rhône. Cela a permis de valider l'hypothèse émise par Swan et de prouver qu'il existait un pDMS mesurable dans les vins et les jus. En effet, les niveaux de pDMS dans les jus (déterminé par la méthode) semblent être un paramètre permettant à l'œnologue de prédire les niveaux de DMS dans les vins correspondants. Cela permet aussi d'évaluer le temps de vieillissement restant pour que les vins atteignent les niveaux de DMS prédits (Segurel et al., 2004). En suivant, Segurel et al. (2005) ont permis de tester les précurseurs potentiels du DMS à l'aide de vieillissements modèles et grâce à l'outil de prédiction (pDMS). Ils montrent que la SMM serait le bon candidat pour être le précurseur majeur du DMS et s'hydrolyser au vieillissement pour former ce composé. Des méthodes de chromatographie en phase liquide couplées à des spectromètres de masse à haute résolution ont permis d'identifier et quantifier la SMM dans les jus et les vins (Loscos et al., 2008; Deed et al., 2019). Il semblerait que, dans les jus de petit manseng, la SMM existe dans le raisin et celle-ci représenteraient 70% du DMS qui pourrait être formé au vieillissement (Loscos et al., 2008).
En conclusion, le DMS serait présent dans le raisin sous forme de précurseurs inodores que l'on nommera comme « potentiel en DMS », dont la SMM constitue son précurseur majoritaire. Cette dernière est considérée comme un dérivé d'acides aminés qui dispose du DMS à l'extrémité de celle-ci. Les structures chimiques du DMS et de la SMM sont présentées sur la **Figure 36**.

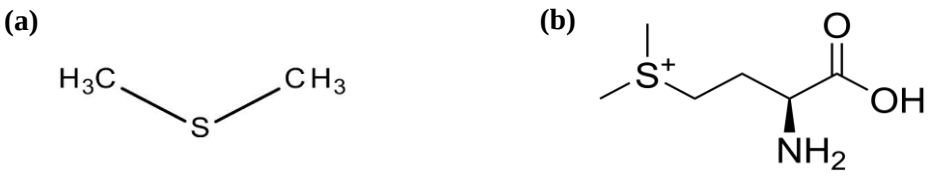


Figure 36. Structures chimiques **(a)** du sulfure de diméthyle (DMS) et **(b)** de la *S*-méthylméthionine (SMM).

2.2 Influence des modes de conduite de la vigne sur les teneurs en pDMS

Étant donné que le DMS a une origine variétale, grâce à la connaissance du pDMS représenté majoritairement par la SMM présente dans le raisin, de nombreux paramètres viticoles pourraient grandement moduler ses teneurs.
Tout d'abord, les travaux précédents sur le pDMS des jus et des vins ont observé une grande variabilité du potentiel en DMS dans les jus en fonction du cépage, du terroir, du millésime (Segurel et al., 2004; Dagan, 2006). De plus, dans le cas des raisins de petit et gros manseng, le pDMS serait synthétisé dans la baie de raisin pendant la phase de maturation, même lorsqu'il y a arrêt de l'accumulation des sucres (Dagan, 2006).

Ensuite, comme cela a été décrit dans la partie 2 de cette thèse, les deux éléments essentiels qui conditionnent à la fois la qualité des métabolites secondaires de la baie et le bon déroulement de la fermentation alcoolique, sont les disponibilités en azote et en eau. Ils peuvent moduler les teneurs initiales en précurseurs d'arômes dans la baie et permettre la préservation de ces précurseurs au cours des étapes fermentaires, afin que les arômes se libèrent ensuite dans le vin. C'est donc le cas pour le DMS. Les travaux de De Royer Dupré et al. (2014) ont pu mettre en évidence un lien direct entre le statut hydrique des vignes de grenache de la vallée du Rhône et les teneurs en pDMS dans les baies. Le lien était aussi retrouvé entre le statut hydrique et le taux d'acides aminés dans les baies. En effet, un déficit hydrique entraînerait une accumulation des acides aminés dans le raisin, conséquence d'un taux d'azote assimilable suffisant pour le bon déroulement des fermentations. En parallèle, les teneurs en pDMS dans les baies augmentent dans des raisins ayant subi un déficit hydrique. De plus, Dagan et Schneider (2012), ont observé le même scénario sur des raisins blancs où le pDMS serait plus élevé lorsque les millésimes étaient plus chauds et lorsque la réserve en eau pour la vigne était moins disponible.
Enfin, la présence du DMS dans les vins de merlot, de cabernet franc et de cabernet-sauvignon bordelais a été mise en relation avec le statut azoté des moûts de ces vins. Une corrélation positive a été calculée entre l'azote assimilable des moûts étudiés et le DMS mesuré dans les vins correspondants au vieillissement (Le Menn et al., 2019). Il semblerait que le DMS dans les vins vieux soit dépendant de la richesse azotée des moûts et donc du statut azoté de la vigne. Les auteurs montrent également que la contribution des cépages dans l'assemblage des vins, aurait un effet mineur sur la production du DMS au vieillissement par rapport à l'effet de l'azote.

3. INFLUENCE DE LA VINIFICATION ET DU VIEILLISSEMENT SUR LES TENEURS EN DMS

L'hypothèse de la voie de production du DMS par les levures pendant la fermentation alcoolique à partir d'acides aminés tels que la cystéine, la méthionine, le glutathion ou même les dérivés d'acides aminés tels que la SMM a tout d'abord été émise (de Mora et al., 1986). Cependant, les résultats des travaux de Fedrizzi et al. (2010) dans les vins effervescents, en lien avec les observations de de Mora et al. (1986), ont permis d'affiner l'hypothèse de départ et d'avancer l'idée selon laquelle, les lies de levures seraient plutôt source de DMS lors de leur autolyse. De plus, dans les conditions œnologiques, peu de conclusions ont été données sur la capacité des levures à libérer le DMS pendant la fermentation à partir des précurseurs supposés alors que, dans le fromage, il est démontré que la levure *Saccharomyces cerevisiae* serait capable d'utiliser la SMM pour former du DMS (Spinnler et al., 2001). Récemment, les travaux de Deed et al. (2019) ont pu montrer que le DMS avait deux voies de formation : chimique et biochimique. Ils prouvent que, dans des moûts de sauvignon blanc, les levures sont capables de produire du DMS depuis la SMM, avec des quantités de DMS qui varient en fonction des souches de levures utilisées.
Ensuite, les études du pDMS dans les moûts et du pDMS dans les vins ont permis de montrer une perte importante de celui-ci pendant la phase fermentaire (Dagan and Schneider, 2013). Il existerait des différences d'assimilation entre les souches de levures, mais celles-ci consommeraient en grande partie le pDMS pendant la fermentation. Cette consommation serait nettement plus marquée lorsque les moûts sont carencés en azote. Les conditions d'extractions des jus ainsi que les niveaux d'azote assimilable dans les moûts, semblent être des paramètres essentiels à la préservation du pDMS (Dagan and Schneider, 2013; de Royer Dupré et al., 2014).
Au cours du vieillissement, la teneur en SMM restante dans les vins est capable de s'hydrolyser en DMS. La transformation du pDMS en DMS se ferait au cours des 10 premières années de la conservation du vin et les teneurs en DMS atteindrait 75% de ce qui avait été estimé au départ par le pDMS sur le jeune vin (Dagan and Schneider, 2013). Ces observations rejoignent celles de Loscos et al. (2008).

Bien que les conditions de conservation des vins et notamment la gestion de la température paraissent essentielles pour permettre la libération du DMS au vieillissement, la gestion du DMS dans le vin pourrait être optimisée par la gestion du pDMS à la mise en bouteille. Étant donné que le DMS est une molécule essentielle du bouquet du vieillissement des vins rouges de Bordeaux et que ses teneurs peuvent s'estimer dans le raisin, il nous semble important de suivre sa dynamique depuis le raisin *via* la mesure du pDMS. Les étapes clés au cours de la vie du vin seront abordées. La stratégie d'étude est présentée sur la **Figure 37**. Le lien entre pDMS et le statut azoté et hydrique des vignes, nous amènent à étudier ses variations avec différents paramètres viticoles, couramment utilisés pour moduler la qualité du raisin à la récolte. Cela nous permettra de répondre à la question : **quels paramètres viticoles**

influencent ses teneurs dans les jus ? Ensuite, l'évolution du pDMS au cours de la fermentation ainsi que l'estimation du DMS qui pourra être libéré au cours du vieillissement, sont des éléments à suivre de près afin que les vins puissent exprimer leur meilleur potentiel de garde. Cela nous emmènera à répondre à : **comment évolue-il ?** Enfin, l'étude du DMS dans le vin et de ses interactions avec la matrice non volatile, fera l'objet d'une attention particulière. **Comment s'exprime-t-il dans le verre ?** La démarche employée ainsi que les résultats obtenus, nous permettrons peut-être de percer quelques mystères de cette petite molécule soufrée.

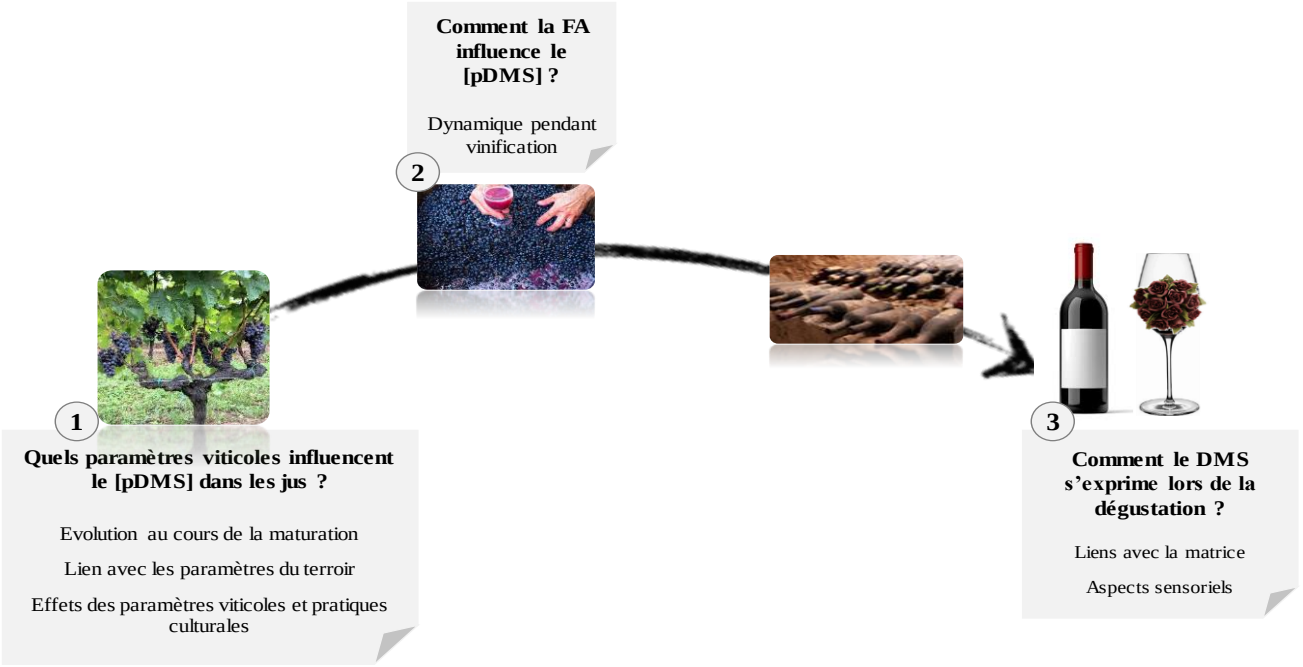


Figure 37. Stratégie choisie pour l'étude du pDMS et du DMS au cours des étapes clés de la vie du vin.

Chapitre 2. Influence des zones du sous-espace bordelais et de la maturité du raisin sur les teneurs en pDMS

1. INTRODUCTION

Un intérêt particulier est porté à l'étude du sulfure de diméthyle (DMS). Dans les vins, il présente des qualités sensorielles particulières et une capacité à intervenir dans des schémas d'interactions perceptives avec d'autres composés (Lytra et al., 2014b; Cameleyre, 2017). De plus, lors des travaux du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux menés par Picard (2015), le DMS était étroitement lié avec le jugement de typicité du bouquet. Sa contribution aux notes de « truffe » et de « sous-bois » a été montrée. Les résultats obtenus dans la Partie 1 de cette thèse, ont mis en avant le fait que les odeurs de « truffe » et de « sous-bois » étaient indispensables au jugement qualitatif des vins vieux. Même si le DMS n'a pas été mis en avant de manière aussi nette que dans les études précédentes, son implication est possiblement indirecte mais indispensable à la complexité du bouquet des vins.

La connaissance du conditionnement du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux rend indispensable la connaissance de la genèse des molécules impliquées dans son expression sensorielle. Ce premier chapitre concernera le début de l'histoire du vin : le raisin et la naissance du DMS. L'étude de l'origine du DMS se fera ici par les mesures du pDMS. Les teneurs de ce dernier peuvent grandement dépendre des terroirs viticoles et être influencées par les conditions du millésime. Certains auteurs ont démontré que le DMS mesuré dans les vins aurait un lien direct avec les teneurs en azote assimilable des moûts correspondants (Le Menn et al., 2019). D'autres scientifiques ont mis en évidence un lien direct entre le pDMS et le statut hydrique de la vigne (Dagan and Schneider, 2013; de Royer Dupré et al., 2014). Ces premières observations nous engagent à vérifier l'existence de ces liens. Les formes d'azote considérées seront liées à leur réalité chimique ou biochimique : « assimilable », « ammonium », « aminé ». Le statut hydrique des vignes cultivés sur différents terroirs du vignoble bordelais sera aussi mis en regard des teneurs en pDMS. La dynamique des teneurs en pDMS sur des jus issus de parcelles de références et de cinq millésimes sera observée. Un lien statistique sera recherché entre le pDMS, les zones de production et les qualités des sols. D'autre part, les observations de Dagan (2006) concernant la synthèse du pDMS pendant la phase de maturation des raisins de petit et gros manseng nous invitent à étudier sa synthèse dans les raisins de merlot et cabernet-sauvignon, les deux cépages emblématiques de la région bordelaise. L'objectif de ce chapitre est donc d'observer les éléments qui favorisent la synthèse du pDMS dans le raisin.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Moûts étudiés

2.1.1 Moûts de raisins récoltés à maturité au cours des 5 dernières années

Cette étude concerne 58 moûts issus de parcelles de référence du réseau maturité de l'ISVV et représentent différentes appellations du bordelais : Médoc nord (Pauillac), Médoc sud (Margaux), Pessac-Léognan, Entre-Deux-Mers, Saint-Émilion et Blaye. Chaque appellation est représentée par un domaine viticole dont une parcelle de merlot et une parcelle de cabernet-sauvignon sont étudiées depuis de nombreuses années (en fonction de la plantation, **Figure 38**). Les 58 moûts de cette étude sont issus du dernier prélèvement effectué « à maturité » lors des millésimes 2015, 2016, 2017, 2018 et 2019. Les paramètres analytiques de ces raisins sont disponibles en ligne sur le site www.bordeauxraisins.fr. Les échantillons disponibles au cours des 5 derniers millésimes sont présentés dans le **Tableau 38**. Le prélèvement des raisins ainsi que le foulage pour la réalisation des moûts ont été effectués par les membres réseau maturité de l'ISVV. Les caractéristiques des parcelles de références de chaque appellation sont présentées sur la **Figure 38**.

2.1.2 Prélèvements au cours de la période de maturation en 2019

Lors du millésime 2019, différents moûts ont été récolté au cours de la maturation du raisin. Une première gamme d'échantillons sont des moûts des parcelles de référence du réseau maturité de l'ISVV (**Figure 38**). Les dates de prélèvements réalisées sur les parcelles de merlot et de cabernet-sauvignon de chaque appellation sont présentées dans le **Tableau 39**. La deuxième série d'échantillons concerne des moûts de merlot, cabernet-sauvignon et petit verdot issus d'un Château partenaire de l'étude. Les trois cépages sont implantés sur la même parcelle. Pour le cépage merlot, une taille dite « précoce » (TP) et taille dite « tardive » (TT) ont été réalisées au cours de la campagne de taille, donc les prélèvements des raisins différenciés ont été effectués. Les différents prélèvements ont été réalisés par le personnel du Château et les dates sont répertoriées dans le **Tableau 39**.

Tableau 38. Disponibilité des échantillons issus du réseau maturité (www.bordeauxraisins.fr) de l'ISVV sur les 5 derniers millésimes (M = merlot, CS = cabernet-sauvignon).

	Médoc nord	Médoc sud	Pessac-Léognan	Entre-deux-mers	Saint-Émilion A	Saint-Émilion B	Blaye
2015	-	M	-	M	M	M	M
	CS	CS	CS	CS	CS	CS	CS
2016	M	-	-	M	M	M	M
	CS	CS	CS	-	CS	CS	CS
2017	-	M	-	M	M	M	M
	CS	CS	CS	CS	CS	-	CS
2018	M	M	M	M	M	M	M
	CS	CS	CS	CS	CS	-	CS
2019	M	M	M	M	-	M	M
	-	CS	CS	CS	CS	-	CS

Tableau 39. Calendrier de prélèvements pour le suivi de l'évolution du pDMS au cours de la maturation 2019 (*sauf St-Émilion B et Pessac-Léognan ; **sauf Médoc N).

Moûts réseau maturité						
	Prélèvement 1	*Prélèvement 2*	*Prélèvement 3*	*Prélèvement 4*	*Prélèvement 5*	*Prélèvement 6*
Merlot	19 août	26 août	02 septembre	09 septembre	16 septembre	23 septembre*****
Cabernet-sauvignon	26 août	02 septembre	09 septembre	16 septembre	23 septembre	30 septembre******
Moûts Château partenaire						
	Prélèvement 1	*Prélèvement 2*	*Prélèvement 3*	*Prélèvement 4*	*Prélèvement 5*	
Merlot taille précoce	02 septembre	10 septembre	16 septembre	19 septembre	-	
Merlot taille tardive	27 août	02 septembre	10 septembre	19 septembre	-	
Cabernet-sauvignon	06 septembre	13 septembre	19 septembre	23 septembre	28 septembre	
Petit-verdot	02 septembre	10 septembre	19 septembre	01 octobre	-	

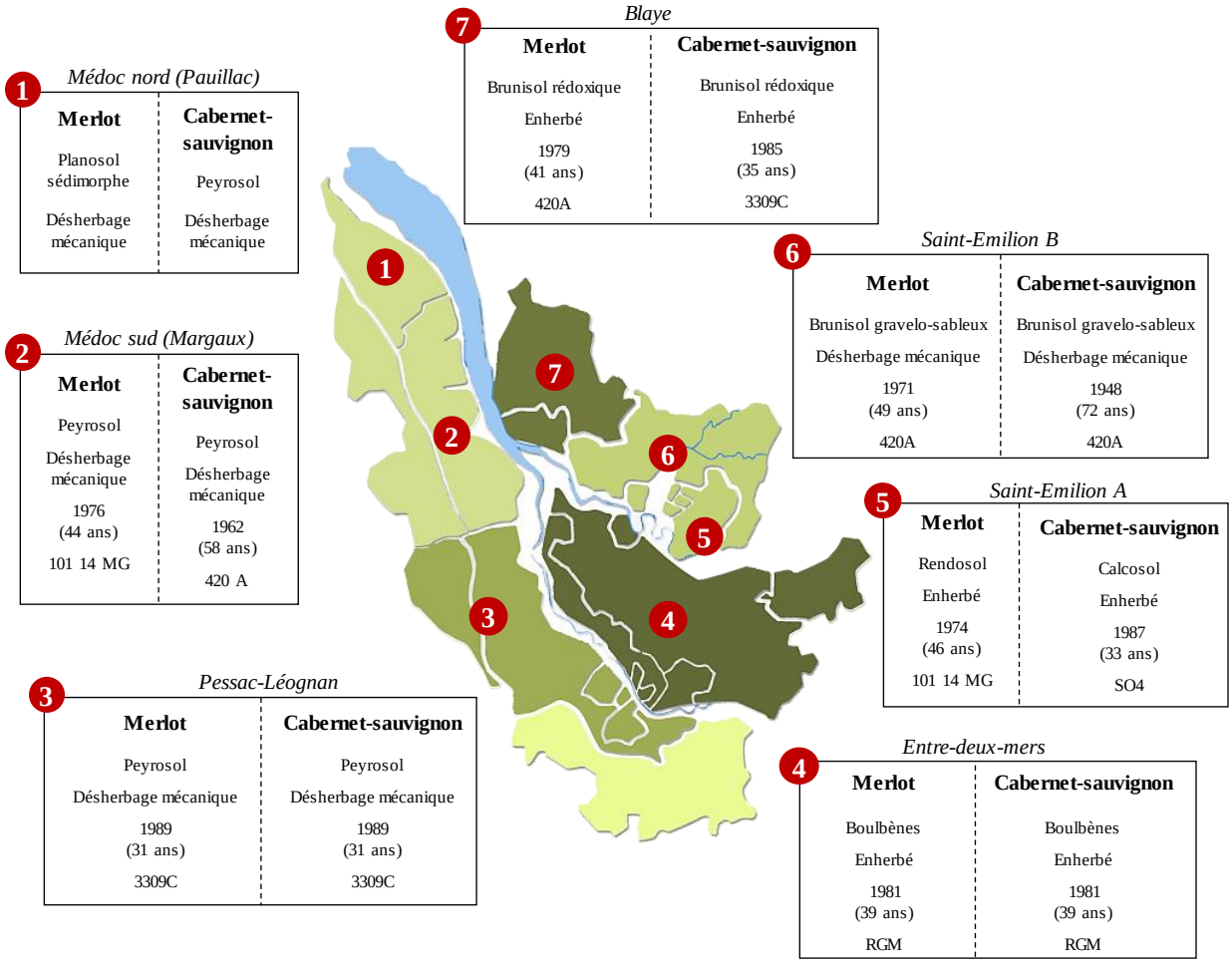


Figure 38. Caractéristiques (sol, travail du sol, année de plantation/âge des vignes, porte-greffe) des parcelles de références plantées de merlot et de cabernet-sauvignon sur l'ensemble du vignoble bordelais (données issus du réseau maturité, www.bordeauxraisins.fr).

2.2 Dosage de l'azote assimilable

Principe de la méthode de dosage

La méthode d'analyse employée est dite de « Sörensen » ou « formoltitration » (Aerny, 1996; Masneuf and Dubourdieu, 1999). Cette méthode consiste à produire une fonction imine à partir de la fonction amine des acides aminés ou de l'azote de l'ammonium. Le formaldéhyde apporté en excès en milieu basique fourni la fonction carbonyle. La fonction acide carboxylique en α de l'imine formée, se dissocie en carboxylate et libère un proton. Dans le cas du dosage des ammoniums, un proton porté par l'atome d'azote est libéré. Cette libération de proton provoque une chute de pH mesurable. Le dosage des protons

libérés par la soude jusqu'au retour du pH initial, permet de connaître la teneur en fonctions aminées. Cette méthode permet la titration de l'ensemble de l'azote ammoniacal et acides aminés assimilables.

Solvants et consommables

La solution de formaldéhyde (37%, v/v) a été fournie par Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France). L'hydroxyde de sodium (NaOH, pureté 98%) et l'eau oxygénée ont été fournis par VWR chemicals (Fontenay-sous-bois, France).

Protocole

Les valeurs de pH de la solution de formaldéhyde et du moût sont ajustées à 8,5 avec de la soude 1M. Une fois les pH ajustés, 20 mL de formaldéhyde et 50 mL de moût sont mélangés. Après 5 minutes de repos, les protons libérés sont titrés par de la soude 0,1 M jusqu'à atteindre l'équivalence (valeur initiale du pH). Le calcul de l'azote assimilable s'effectue selon la formule suivante :

$$\text{Nass (mg de N/L)} = 28 \times \mathbf{n}$$

Avec **n** = volume (en mL) de soude à 0,1 M versé. L'unité représente la masse d'atomes d'azote par litre de moût.

Les dosages ont été réalisés sur des échantillons décongelés et une seule fois, compte tenu du volume important (50 mL) nécessaire à l'analyse et du faible volume de jus disponible.

2.3 Dosage de l'ammonium et estimation par calcul de l'azote aminé

Principe

Le dosage de l'ammonium est réalisé selon la méthode dite de « Jaulmes ». Cette méthode met en œuvre un procédé d'entraînement par la vapeur qui permet une distillation rapide (4 min) de l'ammoniaque (NH_3). La distillation de NH_3 est réalisée après avoir alcalinisé le moût de raisin à l'aide de lait de magnésie (MgO). L'ammoniaque entraîné réagit ensuite avec de l'acide borique pour former un ion borate qui sera ensuite titré par l'acide sulfurique. Ces dosages ont été réalisés grâce à l'équipement disponible (oeno-extracteur Chenard) dans la salle de travaux pratiques de l'ISVV (responsable : Nathalie Alvarez). Une seule analyse a été effectuée sur les échantillons décongelés.

Solvants et consommables

L'oxyde de magnésium (MgO à 98%) calciné et l'acide borique (99,8%) sont fournis par Merck (Darmstadt, Allemagne). L'acide sulfurique (H_2SO_4 à 98%) est fourni par VWR chemicals (Fontenay-sous-bois, France). L'eau ultrapure (18,2 $M\Omega.cm^{-1}$) utilisée pour la préparation des solutions a été obtenue depuis un réservoir d'eau distillée (Prima system ; ELGA LabWater, Veolia Water STI, Anthony, France) et purifiée par un système USF Maxima (ELGA LabWater, Veolia Water STI,

Anthony, France). L'eau distillée utilisée pour la préparation du « lait de magnésie » est également issue du réservoir d'eau distillée Prima system. Le vert de bromocrésol (2 g/L) a été fourni par N. Alvarez (service de travaux pratiques de l'ISVV).

Protocole

Dans le barbotteur de l'appareil à hydro-distiller dit « Chenard », sont introduit : 10 mL de moût et 10 mL de MgO « lait de magnésie » homogénéisé à 20 g/L. La distillation est lancée selon un cycle de 4 minutes automatique. Le distillat est recueilli dans un erlenmeyer contenant 20 mL d'acide borique à 40 g/L. La titration s'effectue à l'aide d'acide sulfurique à 0,005 M fraîchement préparé, en présence de l'indicateur coloré (vert de bromocrésol) qui vire du bleu pâle au vert pâle à l'équivalence. La chute de burette est notée « **n** ». En suivant, un cycle « à blanc » doit être effectué en remplaçant les 10 mL de moût par 10 mL d'eau distillée afin de tenir compte d'une éventuelle carbonication des réactifs. La chute de burette est notée « **n'**».

Le calcul de la teneur en azote ammoniacal est : $[NH_4^+]$ (mg/L) = (**n-n'**) x 17 pour le calcul de la concentration massique de NH_4^+ et [N] (mg/L) : (**n-n'**) x 14 pour l'indication de la masse d'atomes d'azote sous forme ammoniacale.

2.4 Estimation par le calcul de la teneur en azote α-aminé

Compte tenu du manque de temps, nous avons décidé de réaliser une estimation de l'azote aminé par soustraction de la mesure de l'azote ammoniacal à la celle de l'azote assimilable. Il s'agira seulement d'un indicateur pour étudier les corrélations du potentiel en DMS avec les indicateurs azotés.

2.5 Dosage du $\delta^{13}C$ sur moût

L'estimation de la contrainte hydrique de la vigne a été réalisée par la mesure du rapport isotopique $^{12}C/^{13}C$ ($\delta^{13}C$) effectué dans les moûts par la cellule de transfert Vitinnov (http://vitinnov.fr/; Bordeaux Sciences Agro, Gradignan, France) et la plateforme technologique Gismo (http://gismo-solutions.fr/; Dijon, France). Le dosage du $\delta^{13}C$ s'effectue grâce à l'analyse par spectrométrie de masse des rapports isotopiques à débit continu d'une faible quantité de jus versée dans une capsule d'étain, séchée et oxydée sous oxygène. Le rapport isotopique $^{12}C/^{13}C$ de l'échantillon est ensuite comparé à celui d'une norme internationale dite PDB (Gaudillère et al., 2002). Deux millilitres des 58 moûts congelés et annotés ont été fournis à Vitinnov qui, après centrifugation et filtration, a transmis les échantillons préparés à la plateforme Gismo. Les échantillons ont été soumis à une seule analyse. Les interprétations des résultats du $\delta^{13}C$ dans les moûts se font selon les catégories hydriques proposées par Van Leeuwen et al. (2009).

- **$\delta^{13}C$** < - 26 : contrainte hydrique absente
- - 26 < **$\delta^{13}C$** < - 24,5 : contrainte hydrique faible
- - 24,5 < **$\delta^{13}C$** < - 23 : contrainte hydrique faible à modérée
- - 23 < **$\delta^{13}C$** < - 21,5 : contrainte hydrique modérée à sévère
- **$\delta^{13}C$** > - 21,5 : contrainte hydrique sévère

2.6 Dosage du potentiel en DMS dans les moûts

Le dosage du pDMS dans les moûts, comme dans les vins, a été réalisé selon la méthode développée par Segurel et al. (2004). Elle consiste à libérer le DMS depuis son précurseur grâce à une hydrolyse à chaud et à pH alcalin.

Nous avons entrepris, au début des travaux sur le DMS, une optimisation du temps d'hydrolyse qui sera présentée dans le Chapitre 4 (paragraphe 2.5, page 234) de ce manuscrit. L'objectif était d'augmenter la robustesse du dosage et de diminuer son seuil de détection. Ce travail a fait l'objet d'une partie du stage de Master 2 de Morgane Jouan (Janvier-Juin 2019). Deux températures (90 et 95°C) et plusieurs temps de chauffe (15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 minutes) ont été testés. Le dosage du pDMS a été réalisé pour chaque couple « température/temps de chauffe ».

Les résultats ont montré que les concentrations les plus élevées en DMS libéré sur moût étaient mesurées à une température de 95°C pour une durée de chauffe de 75 minutes (annexe 10). Ce temps de chauffe augmenté de 15 minutes par rapport à la méthode proposée par Segurel et al. (2004), permet de doubler la libération du DMS.

Protocole suivi pour le dosage du pDMS dans les moûts

Dix millilitres de moût ont été introduits dans un vial pour SPME préalablement rempli de 3,5 g de sel NaCl. Des volumes de 1 mL de NaOH à 15 M et de 10 µL de thiophène à 318 mg/L (en solution hydroalcoolique 50% v/v) sont ensuite ajoutés. Les vials sont fermés avec un obturateur de type capsule à visser et homogénéisés au vortex pendant quelques secondes. Ensuite, ils sont chauffés pendant 1 h 15 à 95°C.

Une fois l'hydrolyse effectuée, les échantillons sont déposés sur l'appareil Agilent 7890 A (Agilent technologies) et l'analyse du DMS révélé a été faite selon les conditions d'extraction et de quantification de la méthode DMS présentée dans le **Tableau 26**. Les analyses ont été réalisées sur échantillons décongelés, en triplicats et sans centrifugation ni filtration. La quantification du pDMS dans les moûts a été réalisée suivant une gamme de calibration dont les concentrations et les paramètres de linéarités sont présentés en annexe 11.

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel Le logiciel XLSTAT 2019 (Addinsoft, Paris, France). Des tests de corrélations de Spearman ont été réalisés pour mesurer les liens entre les différentes variables mesurées et le pDMS.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Évolution du pDMS au cours de la période de maturation pour le millésime 2019

L'outil de prédiction du DMS (pDMS) a conduit Ségurel et ses collaborateurs à proposer une identification du précurseur du DMS : la *S*-méthylméthionine (SMM), qui est présente dans le raisin (Segurel et al., 2005). Ce dérivé d'acide aminé soufré pourrait représenter 70% du DMS retrouvé au vieillissement dans les vins de petit manseng (Loscos et al., 2008). La grande variabilité des teneurs en pDMS observée dans les jus en fonction notamment des cépages nous invite, dans un premier temps, à chercher à connaître le moment où il est synthétisé dans le raisin et à comprendre son évolution dans la baie jusqu'à la récolte. Donc, l'objectif de cette sous-partie est d'observer la dynamique des teneurs en DMS libérable au cours de la maturation du raisin pour les cépages merlot et cabernet-sauvignon. Deux suivis ont été réalisés en 2019, l'un sur les moûts de l'ensemble du bordelais prélevés par le réseau maturité de l'ISVV (**Tableau 38 et Tableau 39**) et l'autre sur les raisins issus d'une parcelle d'un Château partenaire. Les résultats concernant le premier suivi sont présentés sur la **Figure 39** et les résultats concernant le suivi au sein du Château partenaire sont présentés sur la **Figure 42**.

❖ **Résultats de l'observation des teneurs en pDMS dans les jus du réseau maturité de l'ISVV**

Les résultats du premier suivi sur un ensemble des AOC du bordelais suggèrent que les teneurs en pDMS suivent des dynamiques différentes en fonction des cépages (**Figure 39**). L'analyse des teneurs en pDMS dans les jus issus de parcelles de merlot montre qu'après une augmentation de l'ordre de 70 µg.(L.j)$^{-1}$, des valeurs minimales d'environ 1500 µg/L sont atteintes pour les deux parcelles situées dans le Médoc (Pauillac pour Médoc N et Margaux pour Médoc S) et jusqu'à plus de 2000 µg/L pour les parcelles de Saint-Émilion B ou Blaye.

La tendance des teneurs en pDMS dans les jus issus de parcelles de cabernet-sauvignon montre qu'après une augmentation de l'ordre de 43 µg.(L.j)$^{-1}$, les teneurs en pDMS atteignent des teneurs de l'ordre de 500 à 1500 µg/L. À la fin de la période observée, les teneurs en pDMS dans les jus de cabernet-sauvignon semblent diminuer. Donc à première vue, les teneurs en pDMS dans les jus de merlot

semblent augmenter plus rapidement au cours de la maturation des baies et les teneurs atteintes à la récolte semblent plus élevées que celles du cabernet-sauvignon.

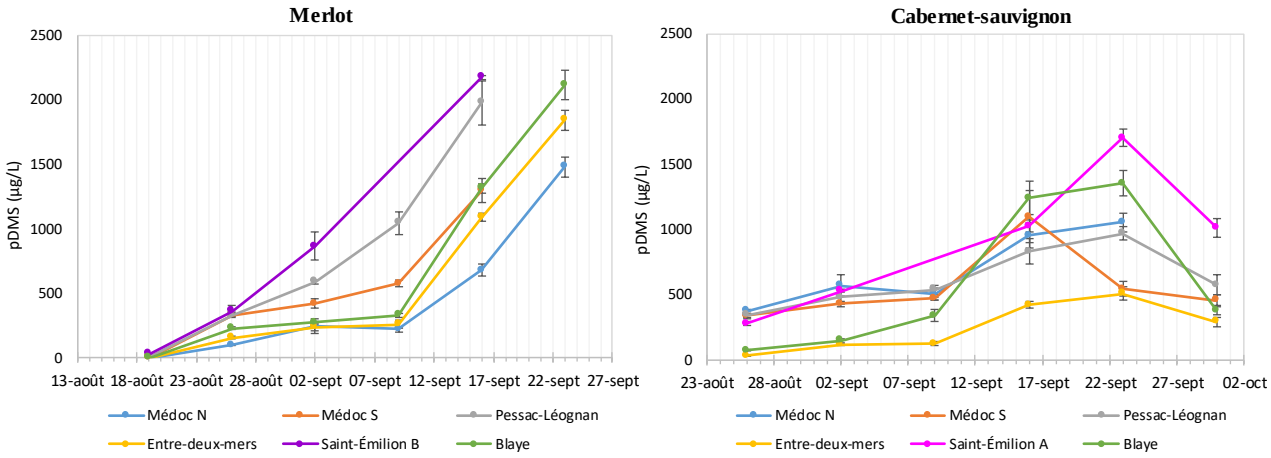


Figure 39. Évolution du pDMS au cours de la maturation du merlot et du cabernet-sauvignon sur l'ensemble des zones étudiées. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage.

Cependant, afin de réellement comparer les cépages il convient, d'une part, de tenir compte du rendement en jus des baies pressées et d'autre part, de comparer les teneurs à niveau de maturité comparable. Nous avons donc observé les évolutions des teneurs en pDMS corrigées par le rapport [sucres]/[acidité totale] puis rapporté les teneurs en pDMS au poids de 100 baies et au volume de jus extrait de 100 baies. L'ensemble de ces paramètres ayant été fournis par le « réseau maturité » de l'ISVV (bordeauxraisins.fr). Une fois les corrections effectuées, on observe (**Figure 40**) qu'il n'existe pas de différence d'accumulation du pDMS au sein de la baie de raisin à niveau de maturité technologique comparable. Les différences observées dans les jus sont à mettre en lien avec des différences de tailles des baies ainsi qu'avec des différences de choix de moment de vendanges. Il est possible que, pour le merlot, il existe une concordance entre la « maturité pDMS » et le moment de vendanges alors que cette « maturité pDMS » est dépassée au moment de la récolte du cabernet-sauvignon.

Il n'est pas, non plus, possible de déterminer s'il existe des terroirs plus propices à l'accumulation du pDMS dans les baies des deux cépages (**Figure 41**). Par contre, une gestion plus fine des dates de vendanges en fonction de ce paramètre, essentiellement pour les raisins de cabernet-sauvignon, devrait être envisagée. La dynamique de l'accumulation du pDMS dans les baies pourrait être considérée comme un paramètre de gestion de choix de la date de vendange pour les vins destinés à la longue garde.

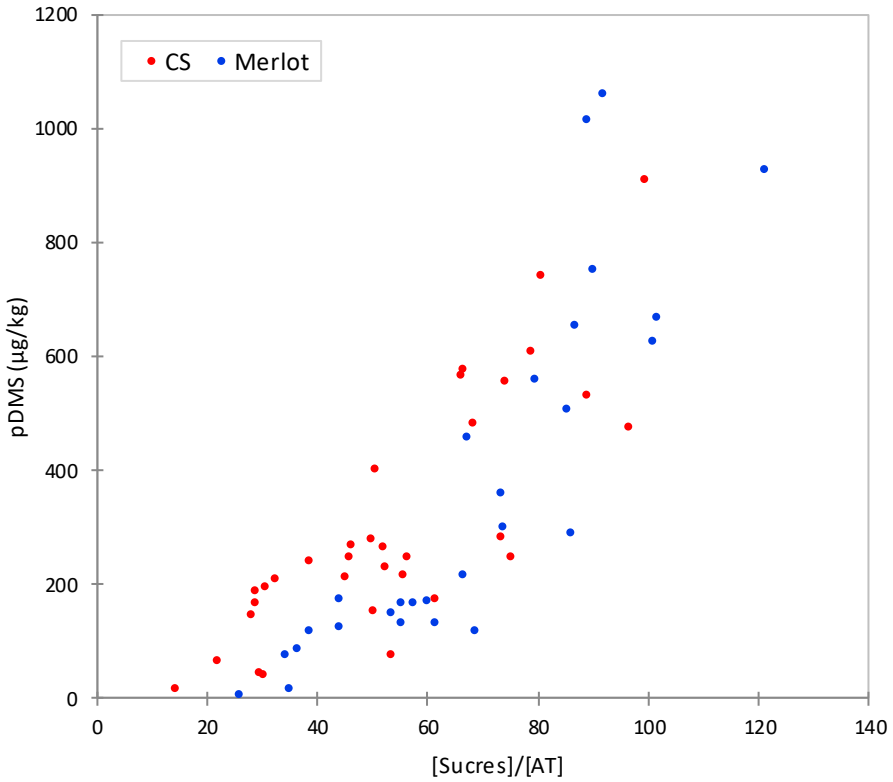


Figure 40. Synthèse du pDMS (µg/kg) en fonction de l'évolution de la maturité déterminée par le rapport [sucres]/[acidité totale] pour les moûts des parcelles de merlot (bleu) et de cabernet-sauvignon (rouge) du réseau maturité de l'ISVV.

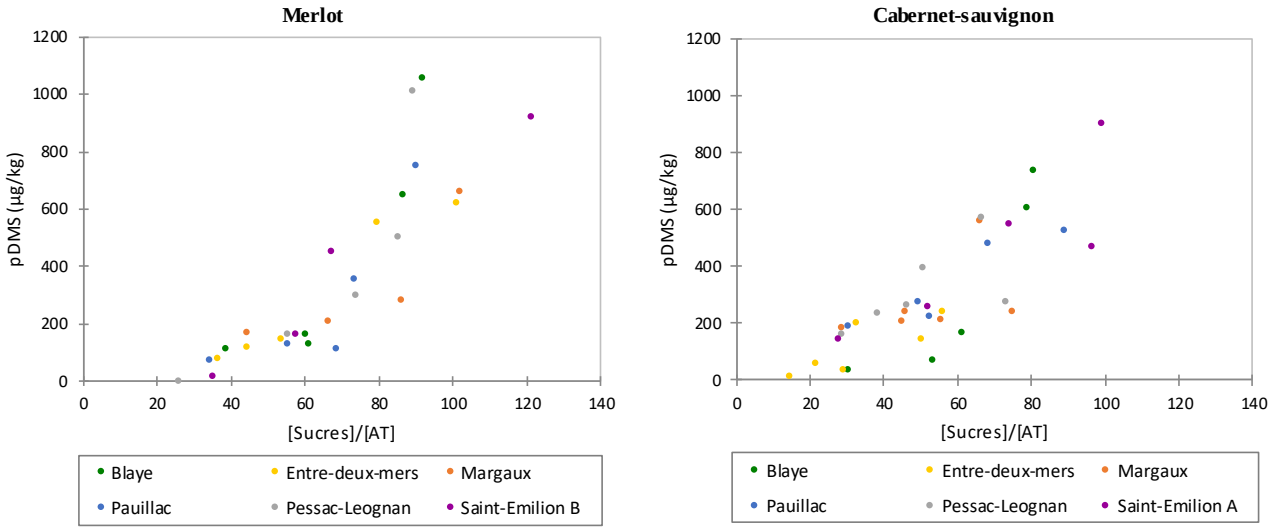


Figure 41. Dynamique d'accumulation du pDMS (µg/kg) en fonction de l'évolution de la maturité déterminée par le rapport [sucres]/[acidité totale] pour les moûts de merlot et de cabernet-sauvignon issus des différentes zones de production.

❖ **Résultats obtenus au sein du Château partenaire**

Le second suivi, réalisé au sein du Château partenaire en 2019, nous permet d'observer la dynamique du pDMS pour 3 cépages implantés sur la même parcelle (**Figure 42**).

Diffusion non autorisée

Figure 42. Suivi de l'évolution du pDMS au sein d'une parcelle d'un Château partenaire de l'étude où les cépages merlot, cabernet-sauvignon et petit verdot sont implantés. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage. **Diffusion non autorisée.**

La Figure 42 n'est pas autorisée à la diffusion. Par conséquent, les résultats et discussions associées ont été supprimés pour cette version de diffusion.

Au regard des résultats de suivi de l'évolution du pDMS au cours de la maturation des raisins pour les différents cépages rouges du vignoble bordelais, il semblerait que le pDMS suive le même schéma que l'accumulation des sucres. La **Figure 43** montre qu'il s'agit d'un lien exponentiel. Les corrélations statistiques approuvent ce lien positif avec une corrélation significative entre le pDMS (µg/kg) et les sucres pour les deux cépages (coefficient de Spearman de 0,910 pour le merlot et 0,783 pour le cabernet-sauvignon). Par conséquent, il serait également anti-corrélé à l'acidité totale (coefficient de Spearman de -0,891 pour le merlot et -0,798 pour le cabernet-sauvignon) et à l'acide malique. Cela montre bien un lien étroit entre la synthèse du pDMS et la maturité technologique des raisins. Grâce aux autres données récoltées par le réseau maturité telles que la teneur en anthocyanes des baies, nous avons pu observer que le pDMS était également corrélé de manière significative à ces composés (coefficient de Spearman de 0,697 pour le merlot et 0,620 pour le cabernet-sauvignon). Cela montre aussi que le pDMS est lié à la maturité polyphénolique des baies. Ces résultats rejoignent ceux obtenus par Dagan (2006) qui démontrait que le pDMS est synthétisé pendant la phase de maturation des raisins de petit et gros manseng. La phase de maturation est alors primordiale pour accumuler le pDMS dans la baie, mais il serait intéressant de pouvoir quantifier directement la SMM dans ces moûts et avoir des données supplémentaires quant à la gestion du DMS dès le raisin.

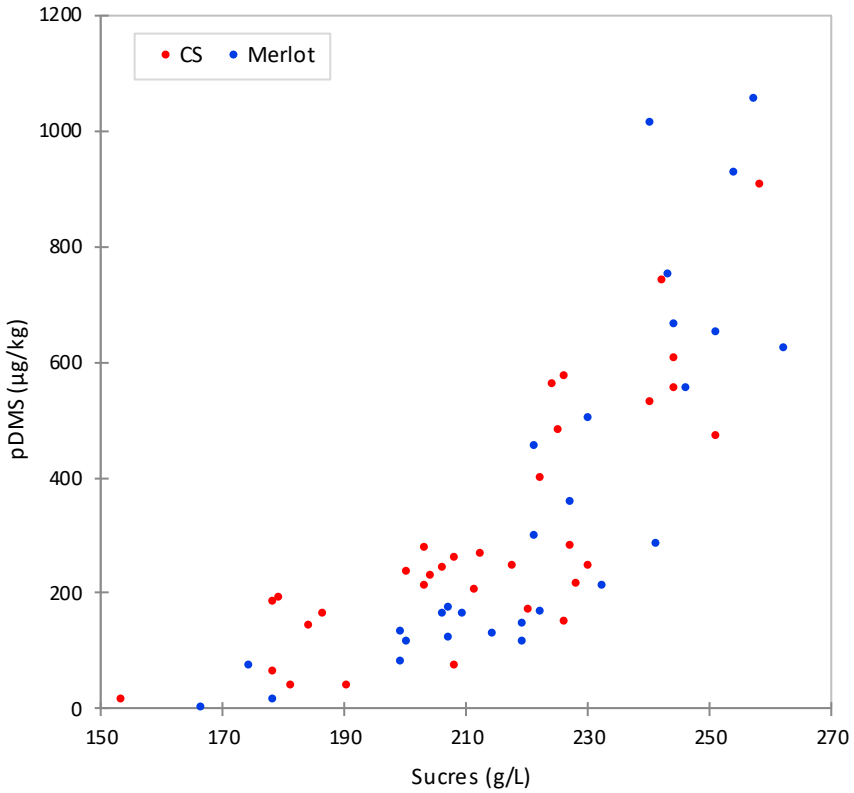


Figure 43. Évolution du pDMS (µg/kg) en fonction de l'accumulation des sucres (g/L) dans les baies de merlot et de cabernet-sauvignon issus des parcelles de références du réseau maturité de l'ISVV.

Concernant la diminution du pDMS dans les baies de cabernet-sauvignon, il est nécessaire de reconduire cette expérimentation lors des phases de maturation d'autres millésimes afin de voir si la même tendance est reproduite chaque année. Mais, les premiers résultats obtenus nous incitent à évaluer plusieurs hypothèses.

***(i)* Hypothèse n°1 : l'épisode climatique.** À cette période de l'année 2019, un fort épisode pluvieux a eu lieu. Il a pu diluer les composés dans la baie et induire une diminution du pDMS dans les raisins. Donc, nous avons tenté d'observer le comportement du volume et poids des baies, des anthocyanes et des sucres, pour voir si l'épisode pluvieux aurait aussi altérer ces composantes. Les résultats nous indiquent qu'il n'y a eu aucun phénomène de dilution car ni les sucres, ni le poids et le volume des baies n'ont été affectés par l'épisode climatique (données non montrées ici). Une légère diminution des anthocyanes à cette même période est observée mais celle-ci ne semble pas significative. Des corrélations avec la pluviométrie et les conditions climatiques seraient utiles pour caractériser le phénomène de manière juste. Nos simples observations invalident l'hypothèse.

***(ii)* Hypothèse n°2 : une maturité avancée.** En effet, la diminution du pDMS dans les raisins de cabernet-sauvignon pourrait nous faire penser à un profil de raisins en maturation très avancée. Peut-

être que pour ce cépage, il existe une dégradation rapide du pDMS dès l'arrêt de chargement des sucres. Nous pouvons observer le comportement des anthocyanes, afin de voir si elles suivent le même profil. Les résultats (non montrés ici) nous indiquent que les anthocyanes restent plutôt stables même si l'évolution tend à la baisse vers la fin de la maturité. Étant donné que nous n'avons qu'une seule mesure de celles-ci, nous ne pouvons parler que de tendances. D'autant plus que nous n'avons pas assez d'outils pour pouvoir vérifier cette hypothèse. La comparaison de ces observations analytiques avec le suivi du chargement en sucres, la dégustation des baies, le dosage de certains arômes pourraient nous indiquer où se situe le cabernet-sauvignon dans l'étape de maturation après l'arrêt du chargement en sucres. Les travaux de Trujillo (2018) ont montré qu'une maturité avancée des raisins de merlot, entraine une baisse de 50% de la teneur en esters linéaires chez les vins tout juste fermentés. La maturité aurait donc un rôle sur la composition en précurseurs d'arômes dans la baie. De ce fait, il serait intéressant de pouvoir étudier, sous forme d'un plan expérimental, l'effet de plusieurs stades de maturité sur les teneurs en pDMS dans les raisins des différents cépages clés du bordelais et sur plusieurs millésimes, pour voir si cet effet est avéré. Ces données pourraient compléter les aspects du choix de la date de vendange pour ce cépage ainsi que pour le petit verdot.

(iii) **Hypothèse n°3 : intermédiaire dans la synthèse d'autre(s) composé(s).** Dans le raisin, la synthèse de composés primaires ou secondaires sont le résultat de nombreuses activités métaboliques. Il se peut que la SMM soit un intermédiaire à la synthèse d'autres métabolites.

Aujourd'hui, les travaux sont encore peu étoffés sur l'origine et l'accumulation de la SMM dans la baie de raisin. Dans d'autres plantes, l'accumulation de la SMM est davantage documentée. Chez la plante *Wollostonia biflora* (L.) DC., la conversion de la méthionine produit de la SMM dans le cytosol qui, ensuite, est transportée dans les chloroplastes et oxydée en 3-diméthylsulfonioproprionaldéhyde (DMSP-ald) (Trossat et al., 1996). La disparition des chloroplastes des baies à partir de la véraison engage l'apparition des anthocyanes dans les vacuoles. Donc à partir de cette période, il serait possible que la SMM soit accumulée elle aussi dans les vacuoles des assises pelliculaires et ne soit plus métabolisée en un autre composé. D'autres études menées sur l'espèce *Arabidopsis* suggèrent que la SMM est synthétisée à partir de la méthionine dans les feuilles peut être transportée *via* le phloème dans les tissus reproducteurs où elle est reconvertie en méthionine *via* l'action du cycle SMM (Cohen et al., 2017). Ce cycle existerait généralement dans tous les angiospermes et la SMM serait un constituant omniprésent du groupe d'acides aminés libres des plantes à fleurs (Mudd and Datko, 1990). En effet, Bourgis et al. (1999) expliquent que la SMM est un constituant majeur de la sève du phloème des épis de blé et a un rôle majeur dans le transport du soufre. Dans le cas du blé, elle pourrait apporter la moitié du soufre nécessaire à la synthèse des protéines de grain. Dans la vigne, son rôle peut potentiellement servir de synthèse de protéines dans le raisin.

Dans tous les cas, la SMM est le résultat d'une activité métabolique, ce qui implique que son déplacement dans la plante justifie un rôle précis, que l'on ignore encore à ce jour. Il pourrait être le

résultat d'un stress biotique ou abiotique de la vigne. Par exemple, la SMM pourrait être synthétisée dans le raisin suite à un stress hydrique de la vigne. Cette hypothèse sera étudiée dans le paragraphe suivant. Une pression parasitaire pourrait également induire le processus de synthèse de la SMM. En effet, si l'on fait l'analogie avec d'autres dérivés d'acides aminés soufrés, ces derniers sont le résultat d'un stress biotique (cas du glutathion). Dans ce cas, il serait nécessaire de mener une étude sur l'origine de la SMM dans la vigne et son accumulation dans la baie. Mais ceci est un champ d'investigation qui doit être mené par des spécialistes de la science du végétal, en laboratoire, avant de mener d'autres expérimentations en champ.

3.2 Effet de l'azote et du statut hydrique sur les teneurs en pDMS à maturité lors des 5 derniers millésimes

Nous venons de voir que le pDMS est un composé synthétisé dans la baie pendant la phase de maturation du raisin, en lien avec l'accumulation des sucres. De plus, des variations des concentrations du pDMS entre les cépages rouges de Bordeaux sont observées. Les différences observées entre les appellations de Bordeaux sont, quant à elles, à confirmer. Maintenant, pour poursuivre notre désir de comprendre l'influence des paramètres du terroir sur les teneurs en pDMS, nous avons choisi d'observer sa dynamique au cours des cinq derniers millésimes, dans des moûts issus de raisins récoltés à maturité et provenant des mêmes parcelles d'études (réseau maturité). Le lien entre le pDMS, l'azote et le $\delta^{13}C$ des moûts a été étudié.
Pour cela, le dosage des différentes formes d'azote (assimilable et ammonium), du $\delta^{13}C$ et du pDMS ont été réalisées dans les 58 moûts issus des millésimes 2015, 2016, 2017, 2018 et 2019 des différentes AOC du vignoble bordelais (**Figure 38**). Les données brutes sont reportées en annexe (annexe 12). Les résultats concernant le merlot et le cabernet-sauvignon ont été étudiés indépendamment. Les liens entre l'azote assimilable, le statut hydrique et le pDMS sont représentés sur la **Figure 44**.

L'observation de ces données, nous permet, dans un premier temps, de montrer que le lien entre l'azote assimilable et le $\delta^{13}C$ est confirmé (**Figure 44**a). En effet, pour les deux cépages, on observe que l'azote assimilable dans les baies est plus important lorsque le statut hydrique est limitant. De plus, les tests de corrélation ont permis d'agrémenter ces observations (**Tableau 40**). Ces premiers résultats sont en accord avec les travaux de De Royer Dupré et al. (2014) qui montrent que les moûts ayant subi une contrainte hydrique prononcée sont plus riches en acides aminés et donc en azote assimilable.

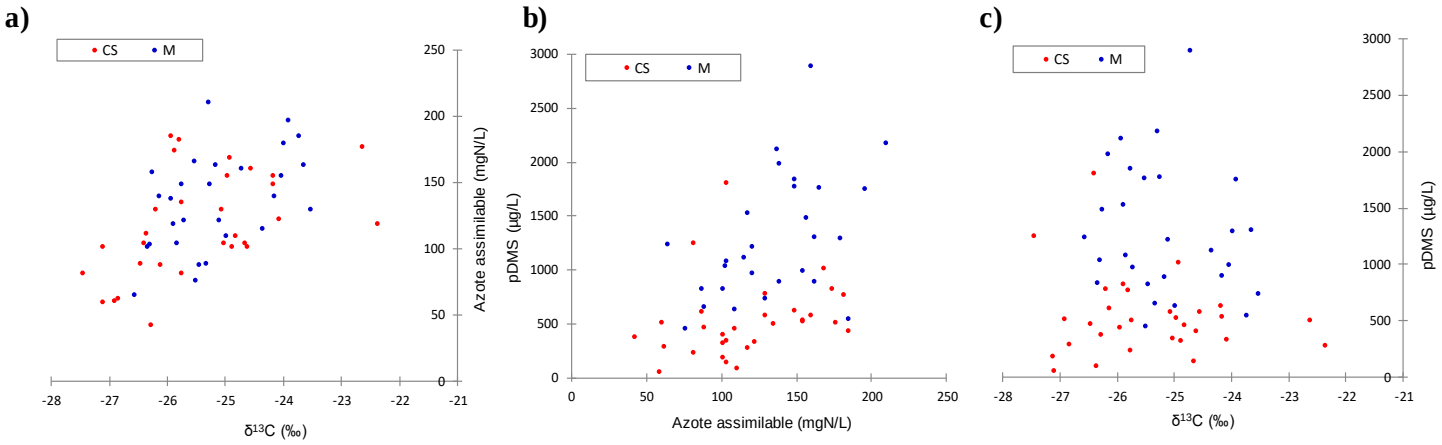


Figure 44. Liens entre le pDMS, les statuts azoté et hydrique dans les 58 moûts de merlot (bleu) et cabernet-sauvignon (rouge) issus des 5 derniers millésimes sur l'ensemble du vignoble bordelais. **a)** teneurs du $\delta^{13}C$ en fonction de l'azote assimilable ; **b)** teneurs du pDMS en fonction de l'azote assimilable ; **c)** teneurs du pDMS en fonction du $\delta^{13}C$.

Tableau 40. Corrélations entre le pDMS, le statut azoté et le statut hydrique des moûts de merlot et de cabernet-sauvignon issus des millésimes 2015 à 2019 sur l'ensemble du vignoble bordelais. *En gras : corrélations significatives avec * p-value <0,05 et ** p-value <0,01.*

	Merlot			**Cabernet-sauvignon**		
	Matrice de Spearman	*P-value*	*R²*	*Matrice de Spearman*	*P-value*	*R²*
$[NH_4^+]$	0,254	0,191	0,065	0,269	0,151	0,072
Estimation acides aminés	**0,546**	**0,003****	**0,298**	**0,538**	**0,003****	**0,289**
Azote assimilable	**0,476**	**0,011***	**0,226**	**0,426**	**0,020***	**0,181**
$\delta^{13}C$	-0,199	0,308	0,040	-0,006	0,974	0,00004

Ensuite, lorsque l'on confronte les teneurs en pDMS à l'azote assimilable et au $\delta^{13}C$, on se rend compte qu'il y a deux tendances différentes. Lorsque la teneur en azote assimilable est élevée dans les baies, le pDMS est lui aussi plus abondant (**Figure 44**b). Cette tendance positive se remarque davantage pour le merlot où les teneurs les plus élevées de pDMS (supérieures à 2000 µg/L) sont retrouvées dans des moûts dont les teneurs en azote assimilable dépassent 150 mg de N/L. Les corrélations calculées

montrent que le lien entre le pDMS et l'azote assimilable est positif et significatif pour les deux cépages (**Tableau 40**). Même si celui-ci présente une corrélation plutôt faible (matrice de corrélation <0,5), ce résultat pourrait compléter les travaux de Le Menn et al. (2019), qui présentaient une corrélation positive et significative entre les teneurs en DMS et l'azote assimilable. Dans cette étude, le pDMS n'a pas été quantifié dans les moûts, donc nos résultats peuvent apporter des notions supplémentaires à ce travail.

D'autre part, les corrélations entre le pDMS et l'ammonium ne montrent pas de résultats significatifs tandis que la corrélation avec l'estimation des acides aminés semble positive et significative (**Tableau 40**). Un travail de dosage de chaque acide aminé indépendamment a été effectué sur d'autres moûts afin de voir si le pDMS est lié spécifiquement à un ou plusieurs acides aminés et voir lesquels pourraient influencer les teneurs en pDMS des raisins à maturité. Ce travail a été effectué et sera présenté au cours du Chapitre 3.

Enfin, aucun lien n'a pu être mis en évidence entre le statut hydrique et le pDMS pour les deux cépages (**Figure 44**c). Lorsque le statut hydrique devient limitant (- 23 < δ^{13}C), les teneurs en pDMS n'ont pas tendance à augmenter. Le test de corrélation a permis également de confirmer cette tendance (**Tableau 40**). Nos résultats ne rejoignent donc pas ceux obtenus par De Royer Dupré et al. (2014) qui, sur des raisins de grenache, obtiennent des teneurs plus élevées de pDMS lorsque le statut hydrique est limitant. Cependant, il existe une limite dans la répartition des statuts hydriques représentés dans notre échantillonnage. La plupart des valeurs de δ^{13}C font partis des limitations hydriques « absent », « faible », « faible à modéré » (**Figure 45**). Seuls deux échantillons sont classés dans la catégorie statut hydrique « modéré à sévère ». Donc, nous devons préciser qu'en absence de limitation hydrique sévère, il n'est pas possible de conclure à un lien.

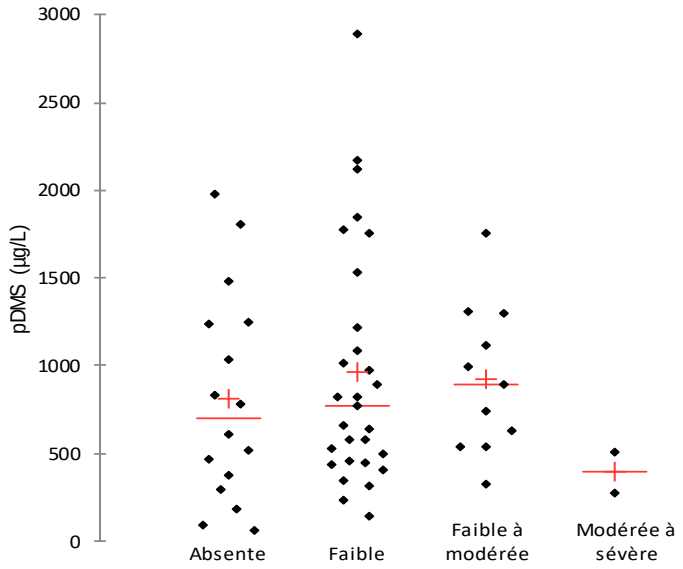


Figure 45. Teneurs du pDMS en fonction des groupes de statut hydrique des 58 moûts étudiés. Les croix rouges indiquent les moyennes et les traits rouges indiquent les médianes de chaque série.

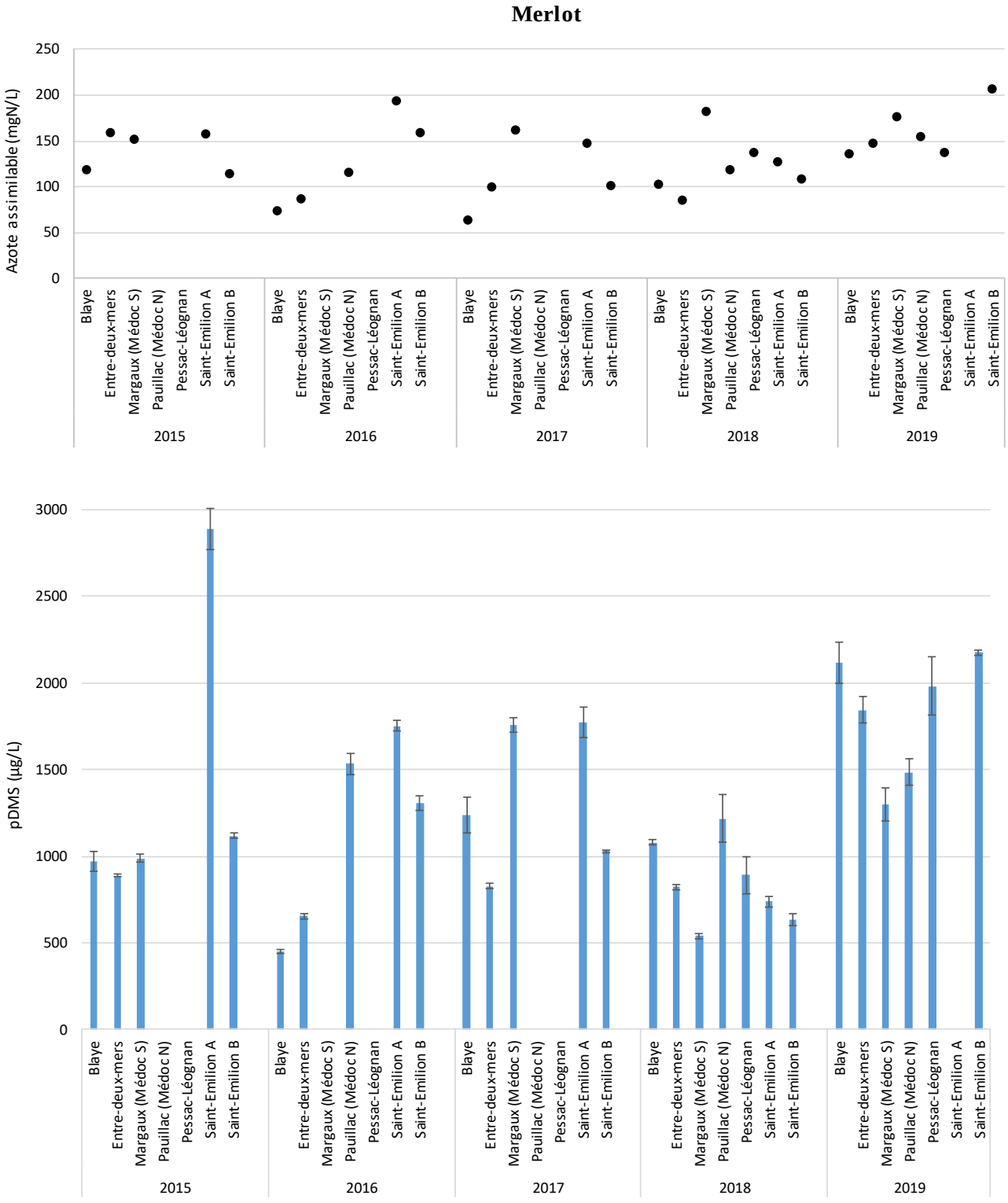


Figure 46. Teneurs en azote assimilable (mgN/L) et en pDMS (µg/L) dans les moûts de merlot issus de raisins récoltés à maturité lors des 5 derniers millésimes dans les différentes zones de production de Bordeaux. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage.

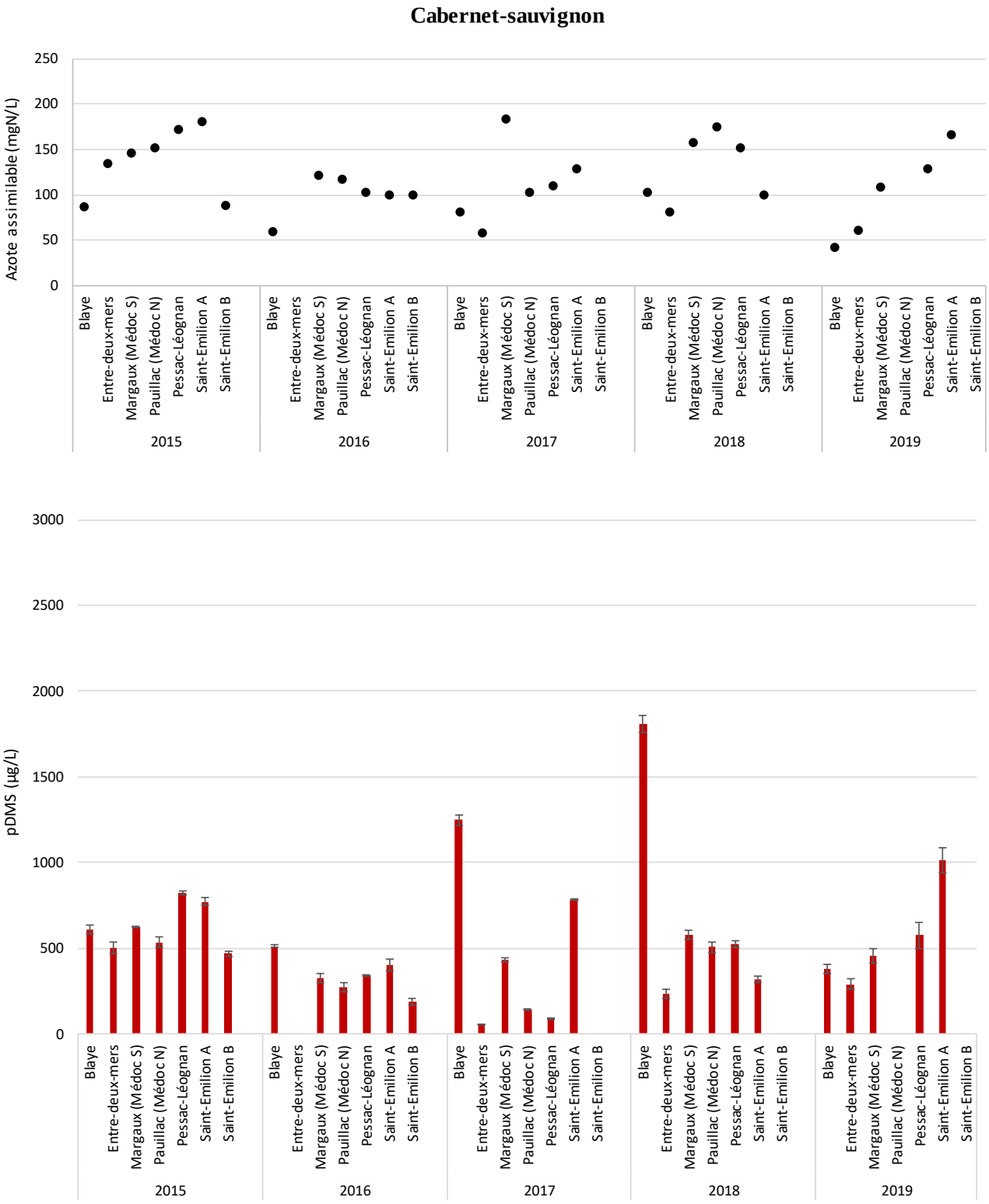


Figure 47. Teneurs en azote assimilable (mgN/L) et en pDMS (µg/L) dans les moûts de cabernet-sauvignon issus de raisins récoltés à maturité lors des 5 derniers millésimes dans les différentes zones de production de Bordeaux. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats de dosage.

3.3 Influence du millésime, des zones de production et des sols sur les teneurs en pDMS

Sur l'ensemble des données, un lien entre le pDMS et l'azote assimilable a été observé. Désormais, il nous paraissait intéressant d'évaluer la dynamique du pDMS au sein de chaque millésime puis en fonction des différents sols et du travail du sol. Ensuite, cette dynamique pourra être comparée à celle qui régit les teneurs en azote assimilable. L'azote assimilable du moût est influencé à la fois par le type de sol, le cépage, le rendement. Sachant que tous ces facteurs sont liés entre eux, il est difficile d'établir des valeurs de catégorisations et de donner des conclusions (Van Leeuwen et al., 2000b). Aussi, les prochaines observations seront seulement descriptives.

3.3.1 Influences du millésime et des zones de production sur les teneurs en pDMS des jus

Dans un premier temps, il nous a paru intéressant d'observer le comportement des teneurs en pDMS dans les jus des raisins de merlot et de cabernet-sauvignon, au sein de chaque millésime et pour les zones de production étudiées. En effet, les conditions du millésime influencent la richesse en nutriments disponibles, en particuliers les conditions climatiques du printemps favorisent la vitesse de minéralisation de la matière organique contenue dans le sol. Le raisonnement a été effectué indépendamment pour chacun des cépages. La **Figure 46** représente les teneurs en pDMS (histogrammes) ainsi que les teneurs en azote assimilable des moûts (courbes) de merlot de l'ensemble des zones de production pour chaque millésime et la **Figure 47** concerne les résultats des moûts de cabernet-sauvignon.

Le pDMS quantifié dans les moûts de cabernet-sauvignon pour chaque millésime est deux fois moins abondant que dans le merlot, ce qui confirme les teneurs observées lors de l'évolution du pDMS au cours de la maturation du millésime 2019.
Pour les jus de merlot, il existe une plus grande hétérogénéité des teneurs en pDMS des moûts issus des différentes zones de production au sein de chacun des millésimes (**Figure 46**). Cette hétérogénéité est moins marquée pour les jus de cabernet-sauvignon dont les teneurs en pDMS sont assez semblables entre chaque aire de production pour tous les millésimes (**Figure 47**). Cette observation nous apprend que pour les deux cépages, il n'existe pas une parcelle qui produirait chaque année, les plus grandes teneurs en pDMS. Par exemple, les raisins de merlot issus de la parcelle de Saint-Émilion A sont comptés parmi les plus riches en pDMS lors des millésimes 2015, 2016 et 2017 mais en 2018, les moûts de cette parcelle sont comptés parmi les plus pauvres en pDMS. Pour les raisins de cabernet, la parcelle de Blaye semble se démarquer sur deux millésimes mais le même constat est observé. Les mécanismes de production du pDMS semblent complexes et multi-dépendants.

L'effet millésime est observé pour l'azote assimilable et cela est cohérent avec les observations déjà décrites dans la littérature, qui indiquent que les conditions du printemps influencent la vitesse de minéralisation de la matière organique (Van Leeuwen and Friant, 2011). Il semblerait également exister un effet millésime sur les concentrations en pDMS. Cet effet est plus marqué dans le cas du merlot, en lien probablement avec de plus importantes teneurs. Les millésimes favorables à la production de pDMS ne sont pas les mêmes pour les deux cépages mais cette remarque doit être remise dans le contexte de l'expérience pour laquelle les cépages ne sont pas plantés sur une seule et même parcelle. En tout cas, sur les 5 dernières années, il n'existe pas un millésime dont les richesses en pDMS sont remarquables. Si le climat annuel influence le pDMS, alors ce ne serait qu'à la faveur de l'expression du millésime dans un terrain.

Enfin, il faut remarquer le lien relatif entre N et pDMS. Celui-ci semble suivre la tendance de l'azote assimilable, c'est-à-dire que lorsque les teneurs en azote assimilable sont élevées, celles du pDMS le sont aussi et inversement. Cependant, cette relation n'est pas stricte, il doit exister d'autres paramètres qui influencent les teneurs en pDMS.

3.3.2 Influence des types de sol sur les teneurs en pDMS des jus

Les teneurs en pDMS dépendent du millésime, mais elles sont aussi très probablement dépendantes des terroirs. Les parcelles de référence des deux cépages dans chaque lieu de production sont caractérisées par un type de sol bien spécifique (**Figure 38**). Étant donné que la quantité d'azote minéral dans le sol et dans la plante est clairement dépendant du type de sol (Van leeuwen et al., 2004; Van Leeuwen, 2010) et que l'effet ce dernier semble plus important que l'effet millésime et l'effet cépage (Van Leeuwen and Friant, 2011), il est intéressant d'observer la réponse du pDMS en fonction de ces types de sols.

La **Figure 48** représente les teneurs en pDMS en fonction des différents types de sols qui caractérisent les parcelles de référence de merlot et de cabernet-sauvignon des différentes aires de production de l'étude. On remarque qu'il existe une assez grande dispersion du pDMS dans des moûts de merlot. Ces variations rejoignent l'hétérogénéité remarquée sur la **Figure 46**. Concernant le cabernet-sauvignon, la grande majorité des parcelles de l'étude sont plantées sur un peyrosol, ce qui explique le peu de données concernant les autres sols. On remarque qu'au sein de ces peyrosol, les teneurs en pDMS sont proches et il n'existe pas de grande variabilité. Les vignes de cabernet-sauvignon plantées sur ces sols semblerait donner, chaque année, des teneurs similaires en pDMS. Ces résultats nous montrent qu'il n'y a pas un effet sol majoritaire sur les teneurs en pDMS dans les moûts. Dans ce cas d'étude, il semblerait que l'effet millésime, l'aire d'appellation, l'association sol x cépage, la phase de maturation et les conditions climatiques influencent les teneurs en pDMS dans les moûts. Donc, l'effet terroir est alors à considérer dans son ensemble dans ce cas d'étude. En effet, les parcelles ne sont pas issues d'une même zone de

production avec le même microclimat. Ceci constitue un biais dans notre étude. Lors du Chapitre 3, l'effet de différents sols issus d'un même vignoble sur les teneurs en pDMS des jus, sera présenté.

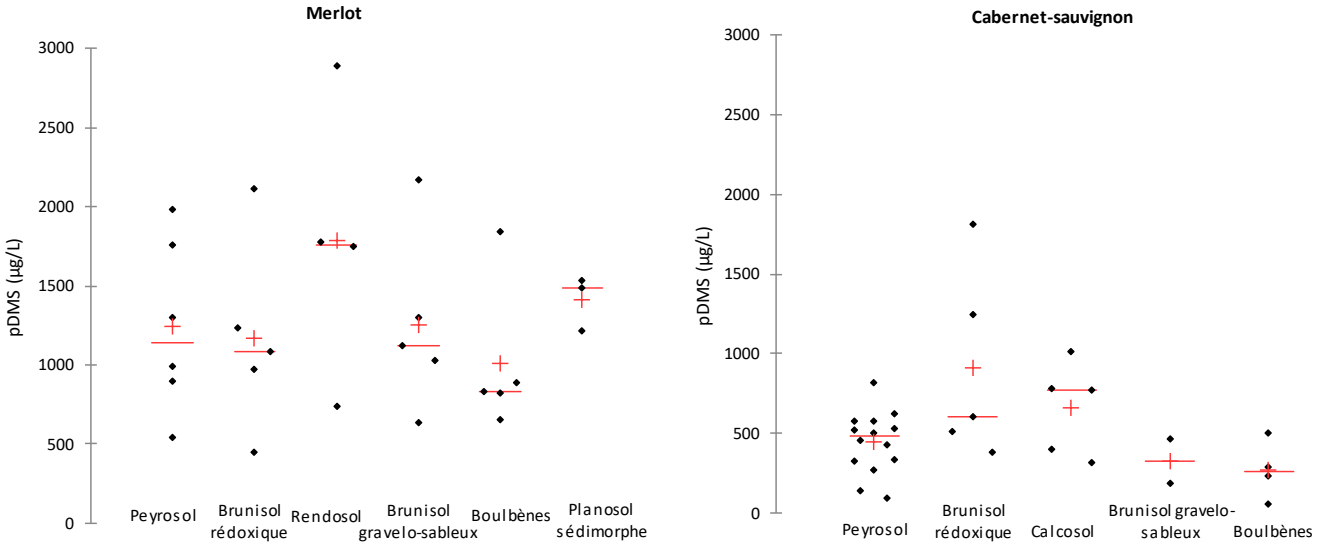


Figure 48. Dispersion des teneurs en pDMS (µg/L) en fonction des types de sols qui caractérisent les parcelles de référence de l'étude. Les croix rouges indiquent les moyennes et les traits rouges indiquent les médianes de chaque série.

Encore une fois, il n'y a pas de tendance unique. Si l'on fait abstraction du matériel végétal et que l'on se concentre seulement sur le réservoir d'azote, on se rend compte que ce sont les sols graveleux (peyrosol), aérés, filtrants et chauds qui favoriseraient l'activité minéralisatrice et donc l'absorption de l'azote par la plante (**Figure 46** et **Figure 47**). Par contre ce ne sont pas ceux qui favorisent le plus la formation du pDMS mesuré à maturité dans les raisins de merlot et de cabernet-sauvignon. Les sols plutôt calcaires (calcosol et rendosol) retrouvés à Saint-Émilion A favorisent également un bon taux d'azote assimilable et aussi un bon potentiel en DMS. Ces sols graveleux et calcaires ont reçu des indices de qualité assez élevés lors de l'étude « terroir » menée par Renouf et al. (2010), sur l'ensemble du bordelais. Ce qui est surprenant, c'est d'observer les teneurs assez importantes de pDMS dans les moûts provenant de sols limono-argilo-sableux à nappe phréatique temporelle (brunisol rédoxique). En effet, quel que soit le millésime, les $\delta^{13}C$ mesurés dans les moûts de ces sols de l'AOC Blaye font partis des catégories de contrainte hydrique « absente » ou « faible ». L'azote assimilable est lui aussi faible sur ces sols. En raison de l'absence d'installation de contrainte hydrique, ces sols ne seraient pas idéaux pour produire des raisins de qualité (Van Leeuwen et al., 2009) mais il seraient favorables à la formation du pDMS. Encore une fois, le lien avec le statut hydrique est inexistant.

En résumé, on observe ici que les variations des teneurs en pDMS dans le jus semblent complexes. Il est tout d'abord nécessaire d'acquérir des connaissances supplémentaires sur la dynamique de

l'évolution du pDMS au cours de la maturation afin de comparer des raisins cueillis dans des états physiologiques comparables. Ensuite, l'accès à des mesures simples telles que le poids des baies et les volumes de jus de 100 baies est indispensable pour comparer les chiffres. Enfin, il est nécessaire de considérer l'expression d'un sol dans un millésime et non pas seulement les qualités de sols ou les critères climatologiques des années.

4. CONCLUSIONS

Les expérimentations menées sur des moûts nous ont enseigné qu'au cours de la maturation du raisin, les teneurs en pDMS dans la baie sont liées à l'accumulation des sucres, indépendamment des terroirs. Une différence conséquente entre les teneurs en pDMS mesurées dans les jus de merlot et celles mesurées dans les jus de cabernet-sauvignon a été observée. Ce résultat a également été perçu au cours de cinq années consécutives. Les schémas de l'évolution du pDMS au cours de la maturation du cabernet-sauvignon et du petit verdot dans des jus de diverses parcelles du vignoble bordelais, nous permettent de proposer différentes hypothèses quant à la dégradation/utilisation du précurseur dans la baie. Toutefois, il est nécessaire de reconduire ces essais sur plusieurs millésimes consécutifs afin de valider l'effet observé.

D'autre part, les teneurs en pDMS sembleraient être liées, dans une moindre mesure, à l'azote assimilable. Ces résultats complètent ceux obtenus par Le Menn et al. (2019) qui montrait que le DMS contenu dans les vins âgés serait relié à l'azote assimilable des moûts correspondants (pour des vins fermentés en conditions identiques). Ces travaux ont également montré que les niveaux de DMS, après vieillissement des vins, dépendaient davantage du statut azoté de la vigne que le cépage (lié au type de sol et aux conditions climatiques). Dans cette étude les variétés étaient plantées côte à côte sur une même parcelle et dans un même microclimat. Cet aspect est moins évident dans des études de moûts et lorsque cela concerne le pDMS. Les résultats obtenus montrent que la variabilité des teneurs en pDMS ne sont pas forcément toujours reliées à celle de l'azote assimilable. De plus, les résultats obtenus montrent que les concentrations en pDMS dans les jus sont variables en fonction des cépages, des millésimes et de l'association sols/zones de production. Aucun paramètre viticole n'est saillant mais il importe que le terroir doit être raisonné dans son ensemble.

Ces observations doivent être confirmées par le biais d'un échantillonnage beaucoup plus large. Il est possible que les pratiques viticoles, influencent elles aussi les teneurs en pDMS des jus, ce qui pourrait expliquer les variabilités du pDMS entre les différentes zones de production. Ce point sera étudié dans le chapitre suivant.

Chapitre 3. Influence du statut azoté des vignes par le biais des pratiques viticoles sur le potentiel en DMS

1. INTRODUCTION

La valeur du potentiel en DMS quantifié dans le raisin à maturité est le résultat d'un cheminement multiple dont on ne connait pas encore tous les aspects. Jusqu'à présent, nos résultats ont montré que, sur un grand nombre d'échantillons de raisins rouges de l'ensemble du vignoble bordelais et sur cinq millésimes, la teneur en pDMS serait positivement liée à la valeur de l'azote assimilable des baies. Aussi, nous nous demandons si les acides aminés seraient également en lien avec le pDMS. Le dosage individuel de chacun d'entre eux pourrait venir compléter l'investigation.

Dans ce chapitre, seront présentés des essais réalisés en conditions de production réelles. Nous avons exploré l'hypothèse d'un lien entre le pDMS et le statut azoté des vignes pour pouvoir utiliser ces expérimentations de production comme travail exploratoire de paramètres clés à étudier. Les travaux ont été effectués au cours du millésime 2018, sur des terroirs de production sur lesquels des cépages adaptés ont été plantés. Ces terroirs représentent des modèles de typologie de production bordelais. Ils sont idéaux pour se rendre compte de l'impact des différents paramètres viticoles sur la génèse d'un vieillissement qualitatif en condition réelle de production. En effet, la connaissance des précurseurs des molécules du bouquet permet ensuite de prendre conscience des pratiques viticoles et des paramètres du terroir qui peuvent influencer les teneurs en précurseurs. À ce jour, la genèse du bouquet de vieillissement, par le biais de la connaissance des précurseurs des molécules du bouquet, n'a été qu'abordée. Seul l'outil de prédiction des concentrations en DMS nous permet d'identifier quelles sont les pratiques susceptibles d'influencer les teneurs en pDMS dans le raisin. Le dosage des différentes formes d'azote (assimilable, ammonium et acides aminés libres) permettra d'observer la réponse de l'azote assimilable et du groupe d'acides aminés face à ces pratiques culturales. Notre objectif serait de trouver un indicateur viticole en lien avec la formation du pDMS. Ceci permettrait, à terme, et après confirmation pratique et théorique, de proposer cet indicateur (si possible facilement mesurable) aux praticiens, afin de leur permettre de sélectionner les lots de raisins en fonction du potentiel en DMS et de leur aptitude au vieillissement qualitatif.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Échantillonnage issu des expérimentations de terrain

Les expérimentations « terrain » présentées ci-dessous ont été réalisées au sein des Châteaux partenaires au cours du millésime 2018. Des expérimentations mises en place par les domaines ont été utilisées. L'objectif était de pouvoir visualiser les effets de nombreuses pratiques viticoles, adaptées aux pratiques locales, sur les concentrations en pDMS. Certaines expérimentations ont été reconduites en 2019.

2.1.1 Étude des types de sols

Trois grandes typologies de sols sont étudiées. Il s'agit de sols argileux, sableux et graveleux qui font l'objet de placettes « terroir ». Sur ces trois sols sont implantés les vignes de cépages merlot et cabernet franc. Les modalités étudiées et les dates de vendange sont présentées dans le **Tableau 41**. Cette même expérimentation a été conduite en 2018 et en 2019.

[…] - Diffusion non autorisée.

Tableau 41. Modalités et dates de vendange de l'expérimentation des « sols » menée en 2018 et 2019. **Diffusion non autorisée.**

	Sols argileux		**Sols sableux**		**Sols graveleux**	
	Merlot	Cabernet franc	Merlot	Cabernet franc	Merlot	Cabernet franc
Date vendange 2018	**Diffusion non autorisée**					
Date vendange 2019	**Diffusion non autorisée**					

2.1.2 Étude de clones de merlot noir

Diffusion non autorisée.

La Figure 49 détaillant le dispositif expérimental est confidentielle.

Diffusion non autorisée

Figure 49. Dispositif et répétitions des clones de l'essai (3 ou 4 blocs/clones de 6 pieds). **Diffusion non autorisée.**

2.1.3 Étude de l'effeuillage et de l'enherbement

Un dispositif d'effeuillage a été mis en place par l'équipe technique du Château partenaire sur une parcelle de merlot sur sol argileux.

[…] – Diffusion non autorisée.

Les modalités d'effeuillage sont décrites sur la **Figure 50**. Sur cette même parcelle, trois couverts végétaux, définis par plusieurs espèces, ont été plantés dans le but de limiter la vigueur. Les modalités enherbement sur la **Figure 51**.

Les Figures 50 et 51 détaillant les dispositifs expérimentaux sont confidentielles.

Nous avons récolté les raisins le 19 septembre 2018 soit deux jours avant la date de vendange choisie par l'équipe technique du château. Environ 10 kg de raisins de chaque modalité ont été prélevés de manière homogène sur le dispositif d'effeuillage et sur l'ensemble de la parcelle pour les modalités enherbement. Ces raisins ont été éraflés et foulés manuellement puis mis en cuves de 10 L. Avant sulfitage, un prélèvement de moût (200 mL) a été effectué puis congelé pour les futures analyses. L'azote assimilable, l'ammonium, les acides aminés libres et le pDMS ont été dosés. Les vinifications ont eu lieu au plateau de nanovinification de l'ISVV (Bordeaux Vinif, https://www.isvv.u-bordeaux.fr/fr/plateau-de-nanovinification.html) et les résultats concernant les vins seront présentés lors du Chapitre 4.

Diffusion non autorisée

Figure 50. Modalités et dispositif d'effeuillage pour l'expérimentation terrain menée en 2018. **Diffusion non autorisée.**

Diffusion non autorisée

Figure 51. Modalités d'enherbement pour l'expérimentation terrain menée en 2018. **Diffusion non autorisée.**

2.1.4 Étude de l'effeuillage, de l'échardage et de la période de taille

Une pratique d'effeuillage couplée à une pratique d'échardage a été menée avec un Château partenaire. Ces essais ont été réalisés sur une parcelle de merlot et une parcelle de cabernet-sauvignon. L'objectif souhaité par le domaine était de moduler l'effeuillage et l'échardage en fonction de la typologie de la parcelle, afin de voir l'impact de ces pratiques sur la qualité des baies et des vins. Nous avons souhaité participer à cet essai afin de comprendre l'impact de ces pratiques sur le potentiel de garde des vins.

[…] - Diffusion non autorisée.

Les modalités étudiées, appliquées aux parcelles et les codes utilisés sont décrits sur la **Figure 52**.

La Figure 52 détaillant le dispositif expérimental est confidentielle.

Diffusion non autorisée

Figure 52. Plan expérimental "effeuillage/échardage" de 2018 effectué sur les parcelles de merlot et de cabernet-sauvignon. **Diffusion non autorisée.**

2.2 Dosage de l'azote assimilable, de l'ammonium et des acides aminés libres (AAs)

Le dosage de l'azote assimilable a été effectué par la méthode dite de « Sörensen » décrite dans le Chapitre 2, paragraphe 2.2, page 187 et le dosage de l'ammonium a été effectué par la méthode dite de Jaulmes décrite également dans le Chapitre 2, paragraphe 2.3, page 188. Ces deux dosages ont été effectués sur tous les échantillons sauf ceux de l'expérimentation des clones en raison des faibles volumes disponibles.

Les acides aminés libres (AAs) ont été quantifiés par HPLC-UV-FLD selon la méthode proposée par (Pripis-Nicolau et al., 2001) et optimisée par (Choi et al., 2012). Elle permet de quantifier 21 acides aminés libres présents dans les moûts et les vins. Ce dosage a été réalisé en triplicats, sur tous les échantillons des expérimentations terrain. Les composés de référence, leur pureté et leur provenance sont référencés dans le **Tableau 42**. Les caractéristiques des produits utilisés pour la fabrication des réactifs et des solvants HPLC sont également inclus dans ce tableau.
Les moûts ont préalablement été filtrés sur cartouche munie d'un filtre nylon de diamètres de pores 0,45 µm (Chromafil® Xtra PA-45/13, Macherey-Nagel, Germany) afin de ne pas endommager le système de chromatographie. Une fois filtrés, le dosage des AAs a été effectué grâce au système HPLC UltiMate® 3000 Rapid Separation LC (RSLC) DIONEX avec une détection fluorimétrique (FLD). Le programme d'injection automatisé ainsi que les conditions chromatographiques sont présentées dans le **Tableau 43**. L'intégration des pics chromatographiques des AAs a été réalisé manuellement à l'aide du logiciel Chroméléon®.
La quantification des AAs dans les moûts s'est réalisé à partir de droites de calibration propres à chaque acide aminé. Des solutions de références d'acides aminés (mélange des 21 AAs) ont été supplémentées à un jus de raisin commercial (Marque Repère, Jafaden) afin de réaliser des gammes de 7 concentrations. Les échantillons dopés ont été injectés en triplicats. Les coefficients de réponse sont présentés en annexe (annexe 13).

Tableau 42. Composés de référence et réactifs utilisés pour le dosage des acides aminés dans les moûts.
* Indique l'étalon interne utilisé

Composé chimique	Abréviation	Pureté	Fournisseur	Localité
Acides aminés				
acide L-aspartique	ASP	≥ 99 %	Sigma-Aldrich	Saint-Quentin Fallavier, France
acide L-glutamique	GLU	≥ 99 %		
L-cystéine	CYS	≥ 99 %		
L-asparagine	ASP-NH2	≥ 99 %		
L-serine	SER	≥ 99 %		
L-glutamine	GLN	≥ 99 %		
L-glycine	GLY	≥ 99 %		
L-thréonine	THR	≥ 99 %		
L-arginine	ARG	≥ 99 %		
L-alanine	ALA	≥ 99,5 %		
L-acide γ-aminobutyrique	TYR	≥ 99 %		
L-tyrosine	GABA	≥ 99 %		
L-éthanolamine	ETN	≥ 99 %		
L-valine	VAL	≥ 98 %		
L-méthionine	MET	≥ 99 %		
L-tryptophane	TRP	≥ 99,5 %		
L-phénylalanine	PHE	≥ 99 %		
L-isoleucine	ILE	≥ 98 %		
L-leucine	LEU	≥ 99 %		
L-ornithine	ORN	≥ 99 %		
L-lysine	LYS	≥ 99 %		
L-norvaline	NORV **(EI*)**	≥ 99 %		
Réactifs				
o-phtaldialdéhyde	OPA	-		
Acide iodoacétique	IDA	≥ 99 %		
Acide borique	-	-		
2-sulfanyléthanol	SE	≥ 99 %		
β-cyclodextrine	β-CD	≥ 99 %		
Phosphate de sodium dibasique dodecahydrate	$Na_2HPO_4,12H_2O$	≥ 99 %		
Diméthylsufoxyde	DMSO	≥ 99 %		
Acide propionique	-	≥ 99,5 %		

Tableau 43. Conditions d'analyse et de dosage des 21 acides aminés par HPLC-FLD.

Appareil : Dionex Ultimate 3000 + Dionex FLD 3000		
Programme d'injection des acides aminés	*Mélanger*	1 µL d'échantillon de moût + 2,5 µL de norvaline (EI à 51,8 mg/L) * + 2,5 µL d'IDA**
	Attendre *Ajouter* *Attendre + mélanger* *Injecter*	2 min 2,5 µL d'OPA**** 5 min 8,5 µL
HPLC-UV-FLD	*Colonne chromatographique*	Xbridge® BEH C18 (Waters, France), 150 mm x 2,1 mm x 3,5 µm.
	Solvants d'élution	Solvant A à pH : 6,65 + 2,06% $Na_2HPO_4,12H_2O$ (250 mM) + 0,37% acide propionique (250 mM) + 2% diméthylsulfoxyde + 6,5% acétonitrile grade HPLC + 1,13% β-cyclodextrine + filtration sous vide à 0,45 µm + ultrasons pendant 20 min Solvant B : 40% acétonitrile grade HPLC + 33% méthanol grade HPLC + 7% diméthylsulfoxyde + Ultrasons pendant 20 min
	Programme de température et débit colonne	0,3 mL/min et 40°C pendant toute l'analyse de 60 min
	Programme d'élution	Condition de départ : 95% solvant A + 5% solvant B Début de la rampe : Solvant A : 95 à 90% pour 12min Puis 90 à 70% en 8 min Puis 70 à 40% en 16 min Puis 40 à 20% en 2 min Puis 95% de solvant A et 5% de solvant B en 5 min et maintien de cette condition pendant 15 min.
	Détection	$\lambda_{excitation}$: 356 nm $\lambda_{émission}$: 445 nm

* Ei : 3 mL de solution de DL-NORV, 120 µL de 2-sulfanyléthanol et 500 mg de $NaB(C_6H_5)_4$ sont dissouts dans 25 mL de tampon borate***

Solution d'acide iodoacétique (IDA) : 3,5 g IDA dissout dans 50 mL de tampon borate*, pH ajusté à 9,5 avec NaOH 4M

***Tampon borate : 7,75 g/L H_3BO_4 avec pH ajusté à 9,5 rectifié avec NaOH à 4M

**** OPA : 750 mg de phtaldialdéhyde dans 5 mL de méthanol et 0,5 mL de 2-sulfanyléthanol. Le volume final est ajusté à 50 mL avec du tampon borate.

2.3 Dosage du pDMS

Le dosage du pDMS a été réalisé en triplicats sur chaque échantillon issu des « expérimentations terrain » sauf pour l'expérimentation des clones où une seule analyse a été effectuée. La méthode employée pour doser ce pDMS a été présentée lors du chapitre précédent (Chapitre 2, paragraphe 2.6, page 190).

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Effets des types de sol sur le pDMS

Les trois typologies de sol étudiées reflètent l'ensemble des sols du domaine. Sur ces trois sols, sont plantés les deux cépages majoritaires : le merlot et le cabernet franc. L'azote assimilable, le pDMS et l'ammonium ont été dosés sur l'ensemble des échantillons de moûts issus des différentes placettes de de merlot et de cabernet franc. Les acides aminés libres ont été dosés seulement sur les échantillons de 2018. Les résultats concernant les teneurs en azote assimilable ainsi qu'en pDMS sur l'ensemble des modalités de 2018 et 2019 sont représentés sur la **Figure 53**.

Diffusion non autorisée

Figure 53. Teneurs en azote assimilable (mgN/L) et en pDMS (µg/L) dans les moûts issus de **(a)** merlot sur sols argileux, sableux, graveleux et **(b)** cabernet franc sur sols argileux, sableux, graveleux lors des millésimes 2018 et 2019. Les barres d'erreur indiquent les écarts-types des triplicats de dosage. **Diffusion non autorisée.**

La Figure 53 n'est pas autorisée à la diffusion. Par conséquent, les résultats et discussions associées dans les sous-paragraphes suivants ont été supprimés pour cette version de diffusion.

3.1.1 Liens avec les indicateurs azotés

Diffusion non autorisée.

Diffusion non autorisée

Figure 54. Analyse en composantes principales des teneurs des 21 acides aminés libres, de l'azote assimilable et ammoniacal et du pDMS dans les moûts de merlot et de cabernet franc issus des différents types de sols lors du millésime 2018. **Diffusion non autorisée.**

Sur l'essai mené en 2018 seulement, en supplément du dosage de l'azote assimilable et de l'ammonium, les acides aminés libres ont aussi été quantifiés. L'existence d'un lien entre le pDMS avec un ou plusieurs acides aminés va pouvoir être recherché. L'analyse en composante principale présentée sur la **Figure 54** permet de visualiser les corrélations entre les acides aminés, l'azote assimilable, l'ammonium et le pDMS pour cet essai des sols en 2018 (cépages confondus).

[…] – Diffusion non autorisée.

La Figure 54 n'est pas autorisée à la diffusion. Par conséquent, les résultats et discussions associés ont été supprimés pour cette version de diffusion.

3.1.2 Effets des cépages, des sols et du millésime sur le pDMS

La vision globale des résultats obtenus sur les deux millésimes (**Figure 53**) permet de lister les effets observés lors de cette expérimentation (cépages, millésimes, sols).

[…] – Diffusion non autorisée.

D'autre part, le chapitre précédent nous a montré que le pDMS était synthétisé dans la baie de raisin au cours de la maturation. Dans cet essai, lorsque l'on observe les dates de vendanges du merlot en 2018 et 2019 (**Tableau 41**), on remarque que l'ordre de récolte des modalités (merlot/sables, merlot/argile, merlot/graves) diffère selon le millésime. Donc, il est tout à fait possible que les raisins des différentes associations sols/cépage n'aient pas été vendangés à des dates optimales de teneurs en pDMS. Ainsi, les valeurs mesurées sont faussées par une estimation de la date de maturité non liée au moment où le pDMS est optimal. Cette observation rejoint la remarque que nous avons évoqué lors du chapitre précédent (Chapitre 2, paragraphe 3.1, page 191), concernant l'étude de la dynamique du pDMS dans les raisins de merlot, cabernet-sauvignon et petit verdot, au cours de la maturation 2019. Les compromis liés au choix de la date de vendange ne correspondaient pas nécessairement à une valeur haute de pDMS (cas observé pour le cabernet-sauvignon et le petit verdot). Nous confirmons que l'étude de l'influence des facteurs viticoles sur les teneurs en pDMS des baies ne peut pas être dissociée d'une étude de la dynamique au cours de la maturation. Bien que cette notion de dynamique d'accumulation du pDMS dans la baie peut s'avérer être un outil de choix de date de vendange pour des vins destinés à la longue garde, des notions supplémentaires concernant l'effet des sols sur les teneurs en pDMS sont à acquérir. Ces notions nous permettront d'effectuer un transfert de connaissances et d'outils aux viticulteurs pour maîtriser les teneurs en pDMS dans les raisins. Des prélèvements pourraient être faits à l'approche de la date de vendange pour mieux comprendre cette dynamique. Toutefois, ces résultats soulignent l'importance de l'ensemble cépage x porte greffe x sol sur l'expression de la baie. Ces éléments sont bien connus empiriquement mais leurs influences sur les caractères des vins vieux ne sont pas clairement établies.

3.2 Étude de différents clones de merlot noir

3.2.1 Effet du clone sur les teneurs en pDMS

Les teneurs en pDMS observées dans le chapitre précédent étaient cépage-dépendant donc cela montre qu'il y a de nombreux mécanismes impliqués dans la synthèse de ce précurseur. Le clone peut avoir son importance dans la gestion des métabolites secondaires tels que le pDMS. Celui-ci a été quantifié dans chacun des blocs qui concerne un répliquât de clone. Les résultats obtenus ont été moyennés par clone et les écarts-types représentent la variabilité intra-clone. Ils sont décrits sur la **Figure 55**.

[…] – Diffusion non autorisée.

Les Figures 55 et 56 sont confidentielles. Par conséquent, les résultats et discussions associés ont été supprimés pour cette version de diffusion.

Diffusion non autorisée

Figure 55. Teneurs en pDMS (µg/L) dans les jus issus des différents clones provenants de la sélection massale (en bleu) et les clones commerciaux (en rouge). Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types intra-clones. **Diffusion non autorisée.**

Diffusion non autorisée

Figure 56. Comparaison entre les concentrations en pDMS obtenues en 2017 et les concentrations obtenues en 2018 pour les mêmes blocs de clones. **Diffusion non autorisée.**

3.2.2 Lien avec les paramètres viticoles

Les concentrations en azote assimilable, azote ammoniacal, acides aminés libres, $\delta^{13}C$, sucres réducteurs, TAVp, pH, AT, acide malique et en pDMS recueillies pour chaque bloc de clones sont projetées sur l'analyse en composantes principales présentée sur la **Figure 57**.

Diffusion non autorisée

Figure 57. Analyse en composantes principales des teneurs de plusieurs indicateurs (statut azoté, maturité et statut hydrique) et du pDMS dans les moûts issus des différents blocs de clones. **Diffusion non autorisée.**

[…] - Diffusion non autorisée.

La Figure 57 n'est pas autorisée à la diffusion. Par conséquent, les résultats et discussions associés ont été supprimés pour cette version de diffusion.

3.3 Effet des pratiques viticoles

Mis à part les sols, réservoir naturel d'azote pour la vigne, il existe d'autres pratiques culturales qui permettent de moduler le statut azoté de la vigne. Les pratiques viticoles étudiées ici permettent de maximiser le cheminement des flux carbonés vers les organes reproducteurs c'est-à-dire les raisins au détriment des organes végétatifs. Ces pratiques sont aussi utilisées dans le but d'améliorer la qualité de la vendange tant au niveau de sa composition moléculaire qu'au niveau de son état sanitaire. Nous avons porté une attention à certaines pratiques, déjà mises en place pour des expérimentations techniques au sein des domaines, afin de comprendre leur impact sur les concentrations en pDMS dans les raisins. À notre connaissance, ces pratiques n'ont pas fait l'objet de travaux en lien avec le pDMS.

3.3.1 Essai effeuillage et enherbement

Dans un premier temps, l'ensemble des résultats obtenus concernant le pDMS, l'azote assimilable, l'ammonium et les acides aminés libres de l'essai effeuillage et enherbement a été soumis à un test de corrélation afin d'observer les éventuels liens entre tous ces indicateurs. Les résultats sont décrits sur la **Figure 58**.

[…] - Diffusion non autorisée.

Diffusion non autorisée

Figure 58. Analyse en composantes principales des teneurs en acides aminés libres, en azote assimilable, ammoniacal et en pDMS dans les moûts de merlot issus des essais effeuillage et enherbement réalisés en 2018. **Diffusion non autorisée.**

La Figure 58 n'est pas autorisée à la diffusion. Par conséquent, les résulats et discussions associées ont été supprimés pour cette version de diffusion.

- Essai effeuillage

Diffusion non autorisée.

- Essai enherbement

Diffusion non autorisée.

Diffusion non autorisée

Figure 59. Teneurs en pDMS (µg/L) et en azote assimilable (mgN/L) dans des moûts issus d'une expérimentation **(a)** d'effeuillage et **(b)** d'enherbement. Les barres d'erreur indiquent les écarts-types des triplicats de dosage. **Diffusion non autorisée.**

La Figure 59 n'est pas autorisée à la diffusion. Par conséquent, les résulats et discussions associées ont été supprimés pour cette version de diffusion.

3.3.2 Essai effeuillage et échardage

L'ensemble des données (cépages, modalités confondues) associées à l'azote assimilable, à l'ammonium, aux acides aminés libres et au pDMS sont mises en commun afin de rechercher des éventuelles corrélations entre tous ces paramètres. La **Figure 60** présente les résultats obtenus.

[…] - Diffusion non autorisée.

Les Figures 60 et 61 ne sont pas autorisées à la diffusion. Par conséquent, les résulats et discussions associées ont été supprimés pour cette version de diffusion.

Dans cet essai, l'azote aminé par le biais d'un petit groupe d'acides aminés et dans un second temps l'azote assimilable, serait de bons marqueurs pour comprendre les modulations des taux de pDMS dans les raisins. Maintenant, regardons les effets qu'ont pu avoir les modalités étudiées sur les teneurs en pDMS.

Diffusion non autorisée

Figure 60. Analyse en composantes principales des teneurs en acides aminés libres, en azote assimilable, ammoniacal et en pDMS dans les moûts de merlot et de cabernet-sauvignon issus des essais effeuillage et échardage réalisés en 2018. **Diffusion non autorisée.**

Diffusion non autorisée

Figure 61. Nuage de points symbolisant les corrélations entre les quelques acides aminés (retenus après l'ACP) et le pDMS pour chaque cépage. **Diffusion non autorisée.**

[…] - Diffusion non autorisée.

Les concentrations du pDMS et de l'azote assimilable en fonction des différentes modalités d'effeuillage et d'échardage sont présentées sur la **Figure 62**. Les effets des différentes pratiques seules ou combinées sont présentés ci-dessous.

Diffusion non autorisée

Figure 62. Teneurs en pDMS (µg/L) et en azote assimilable (mgN/L) en fonction des différentes modalités d'effeuillage et d'échardage réalisées sur les zones définies des parcelles de **(a)** merlot et de **(b)** cabernet-sauvignon. Les barres d'erreur indiquent les écarts-types des triplicats de dosage. **Diffusion non autorisée.**

La Figure 62 est confidentielle. Par conséquent, les résultats et commentaires associés (ci-dessous) ont été supprimés pour cette version de diffusion.

Effet cépage

Diffusion non autorisée.

Effet de l'échardage

Diffusion non autorisée.

Effet de l'effeuillage

Diffusion non autorisée.

Impact des deux pratiques combinées

Diffusion non autorisée.

4. CONCLUSIONS

Ces essais réalisés en conditions de production, permettent d'observer les variabilités du pDMS à l'échelle du vignoble. Cela permet de prendre en compte l'impact direct que peuvent avoir les paramètres étudiés dans le cas d'un ou deux millésimes non identiques. Ces essais ont l'avantage de retranscrire ce qu'il se passe en réalité de production et de servir d'indicateurs des paramètres à étudier.

En revanche, nous sommes conscients des biais que peuvent apporter les conditions réelles par rapport aux conditions expérimentales de laboratoire. Malgré cela, au cours de ce chapitre, nous avons pu étudier différents sols, des clones du merlot, différents paramètres viticoles qui nous ont permis de réaliser un travail exploratoire. La mise en évidence de pratiques ou de paramètres clés ayant un impact positif sur les teneurs en pDMS ont été abordés. Il s'avère que les résultats ne sont pas univoques.

- **L'étude des sols** a montré qu'il pouvait y avoir des effets sur le pDMS. Cependant, l'effet du sol varie selon le cépage et le millésime. Cet essai mérite d'être reconduit sur de nombreux millésimes afin de considérer sur quel type de sol un cépage réussit à obtenir d'importantes concentrations en pDMS. Elle souligne l'importance du couple sol/cépage pour une production de raisins de qualité. De plus dans cet essai, il ressort que la période de maturation du raisin doit être prise en compte comme un facteur majeur afin de garantir des quantités importantes de pDMS dans la baie.
- **L'étude des clones** a montré que l'identité du clone est moins importante que le sol et le millésime sur la production de pDMS dans le raisin. Encore une fois, le millésime était prépondérant sur les résultats. La mise en évidence d'un clone producteur de pDMS semble peu probable. Cependant, la répétition de l'expérimentation dans quelques années, lorsque les vignes seront plus âgées et lorsque le système racinaire sera plus installé, serait intéressant à effectuer.
- **L'étude des pratiques viticoles** : l'essai « effeuillage et échardage » a montré de réels effets sur le pDMS surtout chez le merlot. Une pratique d'effeuillage et d'échardage combinée à des vignes ayant reçues une taille tardive favoriserait grandement les teneurs en pDMS dans les raisins. Cependant, cet essai doit être reproduit.

En résumé, en conditions de production et dans le cadre de ces essais, nous n'avons pas réussi à déterminer un lien constant et simple entre le pDMS et le statut azoté, que ce soit par la mesure de l'azote assimilable, de l'ammonium et des acides aminés. De ce fait, la modulation du statut azoté de la vigne n'est pas un levier suffisant pour moduler les teneurs en pDMS des moûts. Le terroir doit être considéré dans son entièreté et son expression dans le millésime doit être étudiée. La dynamique du pDMS au cours de la maturation des baies doit être systématiquement prise en considération. Des études cinétiques et mécanistiques sur la compréhension de la génèse du pDMS dans la baie sont nécessaires avant de proposer des outils d'aide à la gestion du pDMS dans les moûts.
La réserve en DMS des raisins doit maintenant parcourir l'étape de la vinification. Le pDMS des vins jeunes constituera le réel réservoir en DMS afin que celui-ci puisse se libérer de son précurseur au cours du vieillissement du vin. Le chapitre suivant définira les aspects de la dynamique du pDMS au cours de la vinification.

Chapitre 4. Le devenir du potentiel en DMS au cours de la vinification

1. INTRODUCTION

Comme nous l'avons évoqué dans les chapitres précédents, le DMS prend naissance dans le raisin sous forme de précurseur. L'outil d'estimation du potentiel en DMS (pDMS) a largement été utilisé dans plusieurs études. Par exemple, grâce à cette libération « forcée », l'estimation des teneurs du ou des précurseur/s majoritaire/s du DMS a été effectuée (Segurel et al., 2005). De plus, l'effet du terroir sur les teneurs en pDMS a pu être abordé (de Royer Dupré et al., 2014), puis développé dans ce travail de thèse. La disponibilité de cette méthode de dosage, nous a permis d'entamer un suivi complet du pDMS et du DMS tout au long de la vie du vin. Cela permettra d'avoir une vision globale des modulations du pDMS au cours des étapes de la vie du vin. Les plus importantes seront localisées afin de concentrer les efforts de recherche pour comprendre l'origine des molécules liées au potentiel de vieillissement des vins.

Les deux chapitres précédents concernaient l'étude des teneurs en pDMS dans les raisins et les moûts. Ils se sont axés sur l'étude de ce composé au cours de la maturité du raisin et l'étude des variations des teneurs en fonction des pratiques viticoles et des éléments du terroirs (statut azoté, hydrique, sols, cépages, clones). Désormais, il s'agit d'explorer les conséquences de l'étape de vinification sur les teneurs en pDMS. Le prérequis de cette partie est le fait que certains auteurs ont observé un abaissement important des teneurs en pDMS pendant la phase fermentaire dans des moûts de syrah, de grenache, de petit et gros manseng. Cet abaissement était plus marqué lorsque les moûts étaient carencés en azote assimilable (Segurel et al., 2004; Dagan, 2006; Dagan and Schneider, 2013).

L'objectif de ce chapitre est de suivre la dynamique du pDMS au cours de la vinification de moûts issus de cépages du bordelais (merlot et cabernet-sauvignon) mais également au cours de fermentations réalisées en milieu synthétique. Les essais ont été réalisés à différentes échelles (unités de production viticoles, unités de transfert et laboratoire). Ils ont tous pour but d'étudier les effets des teneurs en azote assimilable sur la modulation du pDMS. La compréhension des mécanismes permettra d'envisager des outils de maîtrise du pDMS sur le jeune vin afin de maîtriser, par la suite, la libération du DMS au cours du vieillissement du vin.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Réactifs et consommables

L'azote N_2 5.0 (pureté 99,999%) a été fourni par un générateur d'azote (Messer SAS, France). L'eau ultrapure (18,2 $M\Omega.cm^{-1}$) a été obtenue depuis un réservoir d'eau distillée (Prima system ; ELGA LabWater, Veolia Water STI, Anthony, France) et purifiée par un système USF Maxima (ELGA LabWater, Veolia Water STI, Anthony, France). L'ensemble des acides aminés, le chlorure de *S*-méthylméthionine, le méso-inositol, le sulfate de magnésium, le phosphate d'ammonium dibasique, le phosphate de potassium monobasique ont été fournis par Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France). L'hydrogénocarbonate de sodium, le D-glucose, le D-fructose, les acides (L-tartrique, citrique monohydrate, L-malique) ont été fournis par Merck (Darmstadt, Allemagne).

2.2 Échantillons analysés

Dans un premier essai, seront étudiés les vins issus des moûts des expérimentations viticoles menées en 2018 et présentées au cours du Chapitre 3. Ces jus ont été vinifiées en petits volumes (10 L) (« microvinifications ») pour l'étude.
Dans un second essai, seront étudiées des expérimentations de vinifications en très petit volume (125 mL) (« nanovinifications ») menées sur milieu synthétique conduisant à la réalisation d'un « vin » synthétique. La description de ces échantillons ainsi que des modalités étudiées sont présentées ci-après.

2.3 Microvinifications des raisins issus d'expérimentations viticoles

En 2018, des microvinifications ont été réalisées dans le cadre des expérimentations viticoles présentées au Chapitre 3.

❖ Microvinifications sans réajustement de l'azote assimilable

Les raisins issus des onze modalités de l'expérimentation « effeuillage et enherbement » présentées sur les **Figure 50** et **Figure 51** ont été vinifiés suivant un protocole de vinification en rouge sans réajustement de l'azote assimilable. Cet essai a été mené au plateau technique de nanovinifications « Bordeaux Vinif » (https://www.isvv.u-bordeaux.fr/fr/plateau-de-nanovinification.html) de l'Institut des Sciences de la Vigne et du Vin lors de la campagne de vinification 2018.

Les prélèvements ont été réalisés de manière homogène en sélectionnant des raisins sains. Les grappes ont été disposées dans des cagettes en plastique. Chaque prélèvement de raisin a été pesé et stocké en chambre froide (4°C) pendant 36 heures. Après remise à température des baies, le protocole adopté pour la vinification a été le suivant :

- éraflage à l'aide d'un petit érafloir semi-manuel (Bucher Vaslin) puis tri grossier des baies et des débris de rafles ;
- foulage manuel et pesée ;
- mise en cuve de 10 L avec « inertage » au préalable et pesée de la vendange foulée ;
- prélèvements des moûts pour les analyses de base (dont sucres, AT, acide malique, pH) effectuées à l'aide d'un analyseur séquentiel (Y15, BioSystems, France) ;
- sulfitage à 5 g/hL (SO_2 à 10% v/v, solution 10®, Laffort, France) ;
- **Prélèvements N°1 pour le dosage du pDMS sur moût (100 mL dans des flacons bruns)**
- macération pré-fermentaire pendant environ 12 heures ;
- ensemencement avec un levain de *Saccharomyces cerevisiae* souche F33 (Laffort, France) à 20 g/hL ;
- mesure de la « densité » quotidienne pour le suivi de la fermentation alcoolique. Lorsque la densité (x1000) est stable et inférieure à 995 un échantillon est prélevé pour le dosage des sucres. La fin de la fermentation alcoolique est déclarée lorsque la teneur en sucres est inférieure à 2 g/L.
- **Prélèvements N°2 pour le dosage du pDMS sur vin fin FA (100 mL dans des flacons bruns)**

Une fois les fermentations alcooliques terminées, les fermentations malolactiques sont effectuées :

- écoulage des cuvons et mise en bonbonne en verre de 5 L ;
- prélèvement d'un échantillon pour les analyses de fin FA ;
- ensemencement direct avec *Oenococcus oeni* souche SB3 (Lactoenos® SB3 direct, Laffort, France) à 1 g/hL ;
- dosage de l'acide malique pour le suivi des FML avec l'analyseur séquentiel Y15.
- **Prélèvements N°3 pour le dosage du pDMS sur vin fin FML (100 mL dans des flacons bruns)**

Une fois les FML terminées, le soutirage et la mise en bouteille ont été réalisés :

- soutirage et filtration à l'aide d'un filtre à cloche ;
- dosage du SO_2 total et libre par analyseur Y15 et réajustement en SO_2 ;
- mise en bouteille et stockage dans la vinothèque à 15°C.
- **Prélèvements N°4 pour le dosage du pDMS sur vin fini (prélèvement dans les bouteilles après 5 mois de stockage en cave)**

La caractérisation des moûts par le dosage du pDMS, de l'azote assimilable, de l'ammonium et des acides aminés libres a été présentée dans le chapitre précédent. Dans ce chapitre, nous utiliserons les résultats du pDMS des moûts de cette expérimentation (**Figure 59**) et nous nous intéresserons aux teneurs du pDMS après fermentation alcoolique (prélèvements N°2) et sur vin fini (prélèvements N°4).

- **Microvinification avec réajustement en azote assimilable**

Ces essais de microvinification ont été réalisés au cours du millésime 2018 par l'équipe technique d'un Château partenaire. Les modalités de cette expérimentation ont été présentées sur la **Figure 52**. Des microvinifications en erlenmeyer de 2 L ont été réalisées suivant un protocole de vinification en rouge adopté par le Château. Les teneurs en azote assimilable dans les moûts ont été réajustées à 200 mg/L. En parallèle, ces modalités ont aussi été vinifiées en cuves de production (volume non renseigné), mais pour cela certaines des modalités ont été regroupées et d'autres sont absentes.

- **Parcelle de merlot**

  M-M1-TP

  M-M1-TT

  M-M2 (TP+TT)

  M-M4 (TP+TT)

  Groupement des baies issues de taille précoce (TP) et tardive (TT) des modalités M2 et M4.

- **Parcelle de cabernet-sauvignon**

  CS-M1-O

  CS-M2-O

  CS-M4-O

  Absence des modalités de la zone Est (E).

À la fin de la fermentation alcoolique, 50 mL des vins « microvinifiés » en erlenmeyer et 250 mL des vins vinifiés en cuves ont été récupérés pour l'analyse du pDMS. À l'issue de la fermentation malolactique, 250 mL des modalités vinifiées en cuve ont été récupérées pour l'analyse du pDMS sur vin fin FML. Tout comme l'essai précédent, les résultats du pDMS sur moût présentés dans le chapitre 3 (**Figure 62**) seront utilisés ici pour définir la teneur de pDMS initial.

2.4 Études en milieu synthétique

Un milieu synthétique (MS) simulant un moût de raisin standard a été utilisé. Le protocole de réalisation de ce moût synthétique a été mis au point par (Bely et al., 1990) et modifié par (Marullo et al., 2006). Les principaux composés nécessaires à la fermentation y sont réunis : sources de carbone et d'azote, oligo-éléments et vitamines. Deux essais de nanofermentations ont été menés avec ce milieu synthétique en faisant varier le paramètre de l'azote assimilable. Le volume total de milieu préparé pour les deux essais était de 3 L. La composition est détaillée ci-après.

Composition pour 1 L de milieu synthétique

Sucres : 220 g/L avec des concentrations identiques (110 g/L) en D-glucose et D-fructose.
Acides organiques : acide tartrique à 3 g/L + acide citrique à 0,3 g/L + acide malique à 0,8 g/L.
Sels minéraux : phosphate de potassium monobasique (KH_2PO_4) à 2 g/L + Sulfate de magnésium ($MgSO_4$, $7H_2O$) à 0,2 g/L.
Vitamines : méso-inositol à 0,3 g/L.
+ **ajout de 1 mL** d'une solution de concentrée de vitamines contenant : 40 µg/L de biotine, 1 mg/L des autres vitamines (thiamine, pyridoxine, acide nicotinique, acide d-pantothénique, acide para-aminobenzoïque).
***Oligo-éléments,* ajout de 1 mL** d'une solution concentrée d'oligo-éléments qui comprends : 4 mg/L de sulfate de manganèse ($MnSO_4$) et de sulfate de zinc ($ZnSO_4$), 1 mg/L de sulfate de cuivre ($CuSO_4$), d'iodure de potassium (KI), de molybdate d'ammonium ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}$, $4H_2O$), d'acide borique (H_3BO_3) et 0,4 mg/L de chlorure de cobalt ($CoCl_2$).

Substances azotées

Azote minéral : phosphate d'ammonium ($(NH_4)_3PO_4$) (= 1/3 de l'azote assimilable), **concentration à adapter en fonction de l'azote assimilable souhaité ***.

Azote aminé : solution mère d'acides aminés (= 2/3 de l'azote assimilable), **concentration à adapter en fonction de l'azote assimilable souhaité **** + ajout dans le MS : GABA (30 g/L) et éthanolamine (10 g/L).

Solution mère d'acides aminés : tyrosine (1,3 g/L), tryptophane (13,6 g/L), isoleucine (2,4 g/L), acide aspartique (3,3 g/L), acide glutamique (9,1 g/L), arginine (28,5 g/L), leucine (3,6 g/L), asparagine (0,7 g/L), thréonine (5,7 g/L), glycine (1,3 g/L), glutamine (38,5 g/L), alanine (11 g/L), valine (3,3 g/L), méthionine (2,3 g/L), phénylalanine (2,8 g/L), sérine (5,9 g/L), histidine (2,4 g/L), lysine (1,2 g/L), ornithine (3,8 g/L) cystéine (0,9 g/L), proline (46,7 g/L).

*****0,3 g de $(NH_4)_3PO_4$ apporte 63 mg d'azote « minéral » pour un total d'azote assimilable de 190 mgN/L
******6,1 mL de solution mère d'AA apporte 127 mgN/L aminé pour un total d'azote assimilable de 190 mgN/L

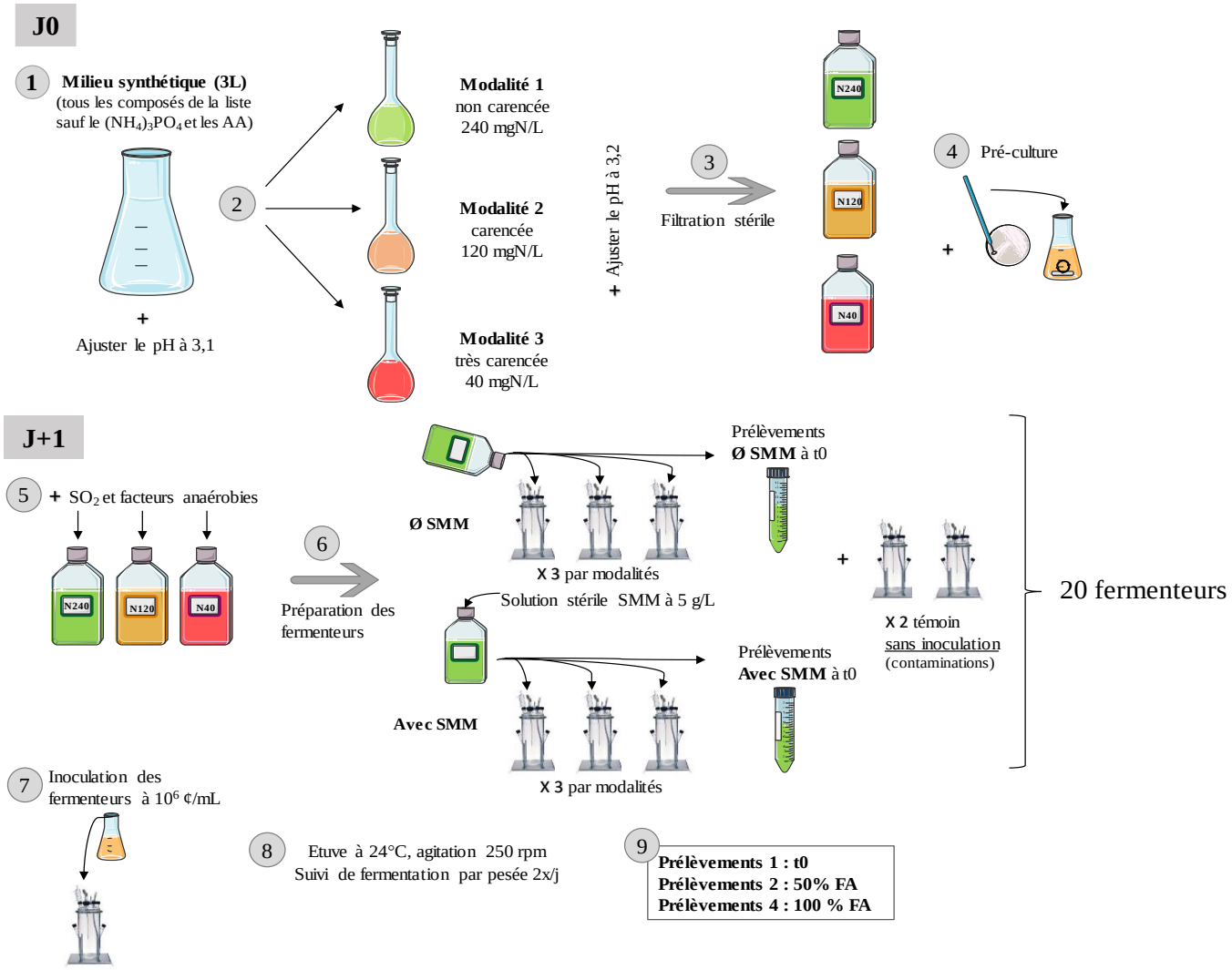


Figure 63. Étapes expérimentales de l'essai 1 : nanovinifications avec des niveaux d'azote assimilable différents.

2.4.1 *Essai 1* - nanovinifications avec des niveaux d'azote assimilable différents

Le premier essai mené avait pour objectif d'étudier l'évolution (consommation ou non) du pDMS grâce à un plan d'expérience réalisé dans un milieu synthétique de vin (simplifié) avec l'azote assimilable comme paramètre variable. Les grandes étapes de cette expérimentation sont décrites sur la **Figure 63** et le protocole détaillé est le suivant.

❖ **Étapes à J0**

Étape 1 - Préparation d'un milieu synthétique de 3 L suivant la composition présentée sur la liste ci-dessus (page 227).

Tous les composés du milieu synthétique sont ajoutés au début sauf les composants azotés tels que le phosphate d'ammonium et les acides aminés. Le pH est ajusté à 3,1 avec des pastilles d'hydroxyde de potassium (KOH).

Étape 2 - Préparation des modalités aux niveaux d'azote assimilable différentes. Les proportions d'azote minéral et organique sont toujours de l'ordre de 1/3 et 2/3 (respectivement) de l'azote assimilable total.

- Modalité 1 – non carencée (N240)

Un litre avec une teneur en azote assimilable à 240 mgN/L. Ajout de 380 mg de phosphate d'ammonium (80 mgN/L d'azote minéral) et 7,66 mL de la solution mère d'acides aminés (160 mgN/L d'azote organique).

- Modalité 2 – carencée (N120)

Un litre avec une teneur en azote assimilable à 120 mgN/L. Ajout de 190 mg de phosphate d'ammonium (40 mgN/L d'azote minéral) et 3,83 mL de la solution mère d'acides aminés (80 mgN/L d'azote organique).

- Modalité 3 – très carencée (N40)

Un litre avec une teneur en azote assimilable à 40 mgN/L. Ajout de 60 mg de phosphate d'ammonium (13 mgN/L d'azote minéral) et 1,29 mL de la solution mère d'acides aminés (27 mgN/L d'azote organique).

Après agitation, le pH de chaque solution a été réajusté à 3,2 avec KOH.

Étape 3 – Filtration stérile.

Les solutions ont été filtrées sur membrane en acétate de cellulose de porosité 0,45 µm à l'aide d'un dispositif sous-vide en zone stérile. Elles ont ensuite été récupérées dans des flacons SCHOTT® stériles.

Étape 4 – Préparation de la préculture.

Vingt-cinq millilitres de la modalité 1 ont été ajoutées à 25 mL d'eau stérile. Environ un cm^2 de biomasse (colonies souche FX10) cultivée sur milieu YPD solide a été prélevé et déposé dans le milieu dilué afin d'adapter les levures au milieu de fermentation liquide. La préculture a été conservée 24 h à température ambiante sous agitation magnétique à 300 rpm (table magnétique multi spots Variomag multipoint, Thermo Scientific).

❖ **Étapes à J+1**

Étape 5 – Ajout des facteurs anaérobies et le SO_2.

Le volume des produits à ajouter a été adapté en fonction du volume restant dans les flacons SCHOTT® pour avoir des « facteurs anaérobies » équivalents à 0,2 mg/L et 20 mg/L de SO_2. Ici, 0,195 mL de « facteurs anaérobies » et de SO_2 ont été introduits dans le flacon SCHOTT® homogénéisé de la modalité 1 et 0,2 mL des deux produits dans les flacons SCHOTT® des 2 dernières modalités.

Étape 6 – Préparation des fermenteurs.

Après agitation, les trois premiers fermenteurs ont été remplis jusqu'à 125 mL par chacune des solutions/modalités. Cette première série constituera une série sans ajout de SMM. Cinquante millilitres de chaque modalité ont été prélevés pour réaliser un dosage du pDMS (témoins).

La SMM a été ajoutée dans chaque flacon SCHOTT®. Pour cela, 1 mL de la solution de SMM stérile à 5 g/L a été introduit pour avoir, dans chaque milieu, environ 10 mg/L de SMM (pDMS équivalent d'environ 3000 µg/L).

Étape 7 – Inoculation des fermenteurs.

La fermentation a été effectuée avec une souche de *Saccharomyces cerevisiae* (FX10) mise en collection, c'est-à-dire, préalablement isolée, purifiée et stockée à -80°C dans du glycérol. Cette souche de levure a d'abord été déposée sur un milieu gélosé YPD afin d'obtenir, quelques jours plus tard, des colonies isolées. Une préculture a été réalisée à J0 à l'aide de la culture obtenue sur boîte de Pétri. Le lendemain, chaque fermenteur a été inoculé (à environ 10^6 cellules/mL) afin d'initier la fermentation.

La densité optique (D.O.) du levain dilué au 20ème et au 10ème dans de l'eau stérile a été mesurée (1 unité D.O. = 2.10^7 ¢/mL) et le volume nécessaire (Vi) à l'obtention d'une population de 10^6 cellules/mL a été introduit dans chaque fermenteur. Le calcul est le suivant :

$$population\ dans\ le\ levain\ \left(\frac{¢}{\mathrm{mL}}\right) = (DOx20) * 2.10^7$$

$$Vi = \ (2.10^6 x125)/population\ dans\ le\ levain$$

Étape 8 – Initiation des fermentations.

Les bouchons et les aiguilles permettant le dégagement de CO_2, ont été disposés sur les fermenteurs. Les fermenteurs ont été ensuite et placés dans une étuve à 24°C suivant la disposition aléatoire prédéfinie. L'agitation a été réglée à 250 rpm. Les fermenteurs ont été pesés 2 fois par jour, tout au long de la phase de fermentation alcoolique.

Chaque modalité est réalisée en triplicats biologiques. De plus, deux fermenteurs témoins non inoculés ont été introduits dans le dispositif pour détecter d'éventuelles contaminations (consommation des sucres par diverses espèces microbiennes donc diminution du poids des fermenteurs) lors de l'expérience. Le suivi des cinétiques de fermentation a été réalisé grâce à des pesées journalières des fermenteurs. Le dégagement de CO_2 montre l'évolution de la fermentation et induira une perte de masse des fermenteurs. Un script réalisé sur le logiciel R permet de calculer et tracer l'évolution des fermentations. Trois prélèvements ont été choisis pour suivre l'évolution du pDMS au cours de cette fermentation (étape N°9) :

- ***à t = 0***, 50 mL du milieu (prélevés dans les flacons SCHOTT® avant et après ajout de SMM) pour un dosage du pDMS en triplicats ;

- ***t = mi FA*** (50% ± 10%), 30 mL prélevés en conditions stériles dans chaque fermenteur pour le dosage du pDMS en duplicats ;
- ***t = fin FA*** (100%), 50 mL prélevés dans chaque fermenteur pour le dosage du pDMS en triplicats.

Le dosage du pDMS à mi-FA et fin FA a été effectué sur le surnageant des échantillons centrifugés (3500 tr/min pendant 5 min) suivant les méthodes décrites ci-dessous (paragraphe 2.5).

2.4.2 *Essai 2* - nanovinifications avec des réajustements en natures d'azote différentes

Un essai de nanovinification a été effectué en faisant varier la nature de l'azote réajusté pour atteindre un niveau d'azote assimilable à 200 mgN/L. Ces travaux ont été effectués sur milieu synthétique au mois de février 2020. La souche de levure utilisée et la même que celle utilisée dans l'essai 1. La mise en place de l'essai a été effectué sur deux jours et a suivi les étapes présentées sur la **Figure 64**.

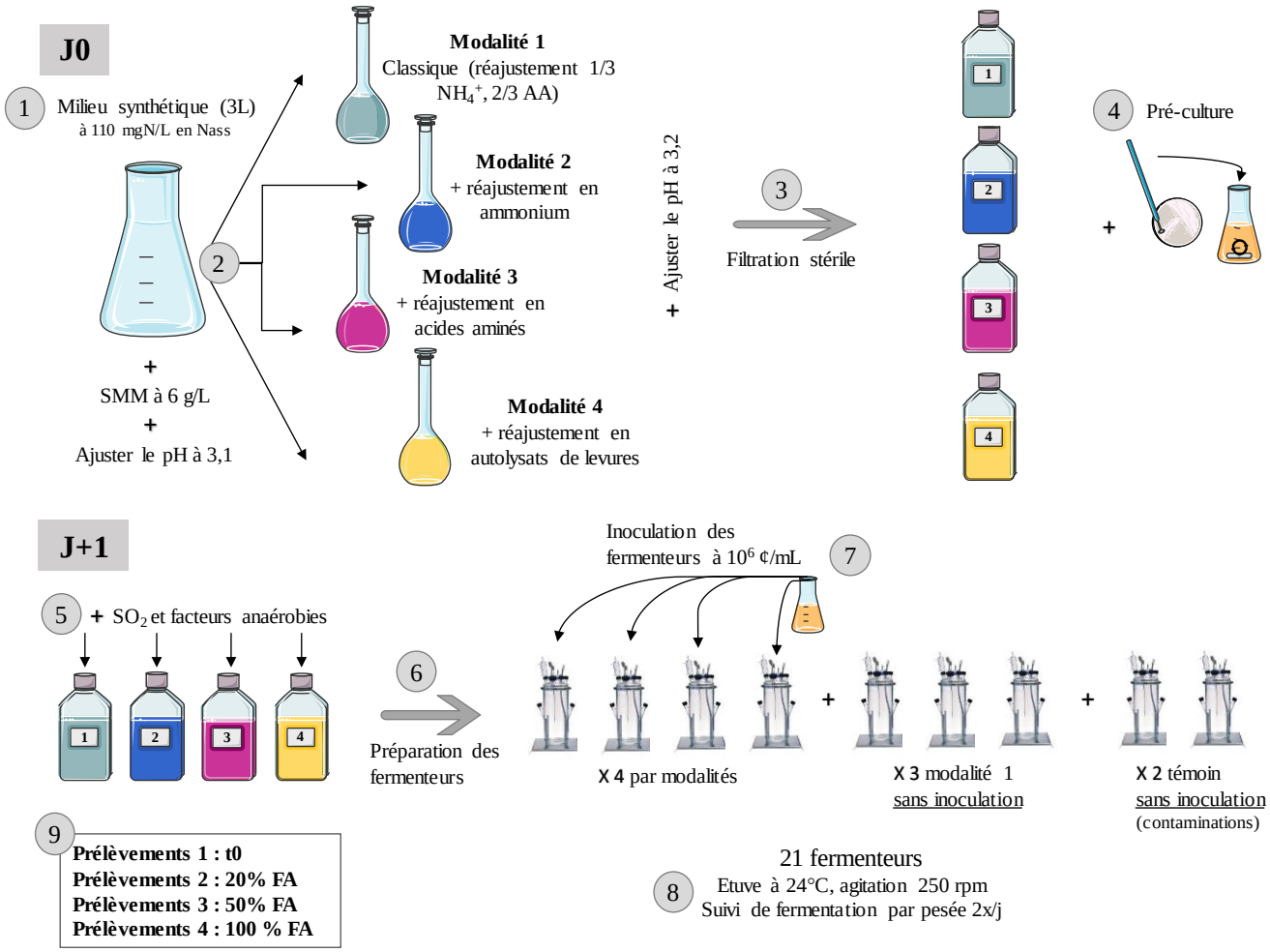


Figure 64. Étapes expérimentales de l'essai 2 : nanovinifications avec des réajustements en azote différents.

❖ **Étapes à J0**

Étape 1 - Préparation d'un milieu synthétique de 3 L suivant la composition présentée sur la liste ci-dessus (page 227).

Azote assimilable à 110 mgN/L : ajout de 520 mg de phosphate d'ammonium et de 10,43 mL de la solution mère d'AA.

Ajout de SMM : 5 mL d'une solution mère à 6 g/L pour avoir une concentration en SMM dans le milieu à environ 10 mg/L soit un équivalent pDMS à environ 3000 µg/L.

Le pH ajusté à 3,1 avec des pastilles d'hydroxyde de potassium (KOH).

Étape 2 - Préparation des modalités et réajustement de 90 mgN/L avec des natures d'azote différentes.

- Modalité 1 – « Classique »

1200 mL d'une modalité avec réajustement en ammonium et en AA suivant les proportions 1/3 ; 2/3. Ajout de 170,4 mg de phosphate d'ammonium et 3,43 mL de solution mère d'AA.

- Modalité 2 – « Ammonium »

600 mL avec réajustement en ammonium seul. Ajout de 252 mg de phosphate d'ammonium.

- Modalité 3 – « Acides aminés »

600 mL avec réajustement en acides aminés seuls. Ajout de 2,57 mL de la solution mère d'AA.

- Modalité 4 – « Autolysats de levures »

600 mL avec réajustement en nutriments organiques faits à base d'autolysats de levures (Nutristart® Org, Laffort, France). Ajout de 1,13 g de Nutristart® Org car 1 g de produit apporte 48 mgN/L d'azote organique.

Après agitation, le pH a été de chaque solution a été réajusté à 3,2 avec KOH.

Les étapes 3 et 4 sont identiques à celles de l'essai 1.

❖ **Étapes à J+1**

Étape 5 – Ajout des facteurs anaérobies et le SO_2.

Le volume des produits à ajouter en fonction du volume restant dans les flacons SCHOTT® a été adapté pour avoir des facteurs anaérobies à 0,2 mL/L et 20 mg/L de SO_2. Ici, 0,24 mL de « facteurs anaérobies » et de SO_2 ont été ajoutés dans le flacon SCHOTT® de la modalité 1 et 0,12 mL des deux produits dans les flacons SCHOTT® des 3 dernières modalités.

Étape 6 – Préparation des fermenteurs.

Après agitation, les solutions ont été réparties dans chaque fermenteur jusqu'à 125 mL.

Les étapes 7 et 8 sont identiques à celles de l'essai 1.

Étape 9 – Les prélèvements pour le dosage du pDMS.

- **Prélèvements à t0 :** le restant des solutions a été gardé dans les flacons SCHOTT® pour l'analyse du pDMS initial.
- **Prélèvement à 20% de la FA :** 40 mL du fermenteur n°4 de chaque modalité ont été prélevés en conditions stériles. Après avoir été centrifugé (3500 rpm pendant 5 min), le surnageant a été récupéré.
- **Prélèvement à 50% de la FA :** 40 mL des fermenteurs n°1, 2 et 3 de chaque modalité et 40 mL des 3 fermenteurs des modalités non inoculées ont été prélevés en conditions stérile. Le surnageant a ensuite été récupéré.
- **Prélèvements à 100% de la FA :** le volume nécessaire a été prélevé dans la totalité des fermenteurs de l'étude et le surnageant a été récupéré.

Un prélèvement du témoin non inoculé a été réalisé à 0, 50% et 100% de la FA.
Les conditions de dosage du pDMS sont présentées ci-après.

2.4.3 Effet du bullage sous azote

Avant l'essai n°2, une vérification a été menée en introduisant de l'azote dans un milieu modèle « moût », un milieu modèle « mi-FA » et un milieu modèle « vin ». L'objectif est de reproduire grossièrement les flux que l'on obtient avec le moût synthétique après fermentation.

Matrice modèle moût (100 mL)

- 10 g de glucose
- 10 g de fructose
- 0,4 g d'acide tartrique
- pH ajusté à 3,3 avec de la soude (NaOH en pastilles)

Matrice modèle mi-FA (100 mL)

On considère que la moitié des sucres a été consommée et qu'il y a la moitié du taux d'alcool classique (12% v/v) produit. La matrice contient les proportions suivantes.

- 5 g de glucose
- 5 g de fructose
- 0,4 g d'acide tartrique
- pH ajusté à 3,4 avec de la soude (NaOH en pastilles)

Matrice modèle vin (100 mL)

- 12 % éthanol

- 0,4 g d'acide tartrique
- pH ajusté à 3,5 avec de la soude (NaOH en pastilles)

Une solution de SMM à 4,5 g/L a été aditionnée à chaque matrice pour obtenir des concentrations en pDMS semblables à celles mesurées à chaque étape de la fermentation.

- Matrice moût : ajout de 220 µL de la solution mère de SMM (pDMS équivalent à 3000 µg/L).
- Matrice mi-FA : ajout de 70 µL de la solution mère de SMM (pDMS équivalent à 1000 µg/L).
- Matrice vin : ajout de 50 µL de la solution mère de SMM (pDMS équivalent à 700 µg/L).

Les analyses ont été effectuées en 3 temps.
Avant bullage : t =0 ; 30 mL ont été utilisées pour doser le pDMS.
Après bullage : 70 mL restant ont été placés sous flux d'azote afin de créer un bullage simulant le flux de gaz lors de la fermentation alcoolique.

- À t =1 h 30 : 30 mL utilisés pour doser le pDMS après 1 h 30 de bullage sous flux d'azote.
- À t = 3 h : 30 mL utilisés pour doser le pDMS après 3 h de bullage sous flux d'azote.

Le dosage du pDMS a été effectué avec les conditions adaptées à chaque matrice.

2.5 Dosage du pDMS

Dans ce chapitre, le pDMS a été quantifié dans différentes matrices : moûts modèle, mi-fermentation d'un milieu modèle et vin modèle et réel. Les conditions d'hydrolyse, d'extraction, et de calibration diffèrent en fonction des matrices et sont expliquées dans les différents points ci-dessous. En revanche, la méthode d'analyse GC-MS du DMS libéré est identique pour tous les milieux. Une fois que l'hydrolyse est effectuée, les vials sont déposés sur l'appareil Agilent 7890 A (Agilent technologies) et l'analyse du DMS révélé a été effectuée selon les conditions d'extraction et de quantification de la méthode DMS présentée dans le **Tableau 26**. Les analyses de pDMS ont été réalisées sur échantillons décongelés, en triplicats.

- <u>pDMS sur moût (MS)</u>

Ici, seront décrits seulement les dosages du pDMS sur moût/milieu synthétique pour la réalisation des essais de nanofermentation. Le dosage du pDMS a été réalisé sur la matrice « moût modèle » suivant le protocole optimisé décrit dans le Chapitre 2, paragraphe 2.6, page 190. La gamme de calibration utilisée pour quantifier ce composé est celle des moûts. Les paramètres de calibration sont également présentés en annexe 11.

- pDMS à mi-FA (MS)

Une méthode de dosage du pDMS à mi-FA a été adaptée rapidement au laboratoire afin de disposer d'une méthode adaptée à la matrice de mi-FA qui contient à la fois des sucres et de l'éthanol. Pour cela, les conditions d'hydrolyse sont celles utilisées pour les moûts (1 mL de soude à 15 mol/L, température et temps de chauffe : 95°C pendant 1 h 15) et les conditions d'extraction sont celles utilisées pour les vins (3 g de NaCl ajoutés).
Les concentrations ajoutées pour la gamme de calibration de mi-fermentation ont également été revues. Cette gamme de calibration a été effectuée à partir d'un moût modèle de mi-fermentation (100 g/L de sucre et 6% d'éthanol). Les paramètres de calibration sont présentés en annexe 11.

- pDMS sur vin réel et MS

Le dosage du pDMS sur vin a fait l'objet d'une optimisation comme cela a été le cas pour le pDMS sur moût. Il s'agit des mêmes conditions que celles du moût présentées dans le Chapitre 3, paragraphe 2.6, page 190. Un couple « température/temps de chauffe » choisi est identique à celui de la matrice vin. Les résultats de libération optimale du DMS étaient obtenus pour un temps de chauffe de 90 minutes soit 1 h 30 à 95°C (annexe 11).

Protocole suivi pour le dosage du pDMS sur vin et matrice vin modèle.
Dix millilitres de vin ont été introduits dans un vial SPME préalablement rempli de 3 g de NaCl. Des volumes de 1 mL de NaOH 5 M et de 10 µL de thiophène à 318 mg/L (solution hydroalcoolique 50% v/v) sont ensuite ajoutés. Les vials sont fermés avec un obturateur téfloné de type capsule à visser et après une homogénéisation au vortex de quelques secondes, sont chauffés 1 h 30 à 95°C. Un vial contenant également les mêmes produits sans la soude permet de quantifier la quantité de DMS présent dans le vin afin de soustraire ensuite le « DMS libre » du « DMS total » et ne tenir compte que du « DMS libérable » ou « pDMS ». La quantification du pDMS dans les vins a été réalisé suivant une gamme de calibration dont les concentrations et les paramètres de linéarités sont présentés en annexe 11. La même gamme de calibration a aussi été réalisée dans une solution modèle de vin pour s'affranchir de la matrice et s'approcher davantage du vin synthétique issus des nanovinifications en laboratoire.

3. RÉSULTATS

3.1 Vinifications avec et sans réajustement en azote

Les résultats présentés dans cette sous-partie ont pour objectif d'observer la dynamique du pDMS au cours de la vinification. Les essais terrain concernant « l'étude des pratiques viticoles » présentés dans

le chapitre précédent (Chapitre 3, paragraphe 3.3, page 217), ont été vinifiés suivant deux typologies : l'un des essais réajusté en azote lors de la vinification, l'autre essai ne l'a pas été.

3.1.1 Vinification sans réajustement en azote assimilable

Les modalités de l'expérimentation « effeuillage et enherbement » ont été vinifiées en cuvons de 10 L sans réajustement en azote assimilable au cours de la fermentation. Le but de cet essai était d'observer la modulation du pDMS dans les moûts avec l'azote des baies comme seule source azotée. Les onze fermentations alcooliques se sont déroulées de manière assez homogène, avec une durée de fermentation de 13 jours (pour les modalités A4 – effeuillage précoce/témoin et B1 – effeuillage classique/soleil levant) à 18 jours (pour toutes les autres) (annexe 14). Comme attendu, les fermentations ont été languissantes. Finalement, les teneurs en sucres résiduels étaient toutes inférieures à 2 g/L au bout de 18 jours, ce qui indique que les fermentations étaient terminées. Ensuite, le suivi de FML a été réalisé par le dosage de l'acide malique. Une fois les fermentations terminées les vins ont été directement filtrés, sulfités et mis en bouteilles. Aucun contact avec un contenant en bois n'a été réalisé. Enfin, les bouteilles de chaque modalité ont été stockées en chambre thermorégulée de 15°C.
Trois prélèvements du pDMS ont été effectués au cours de la vinification. Le premier prélèvement de moût a été réalisé après encuvage et sulfitage, ce qui a permis de quantifier le pDMS initial. Le deuxième prélèvement a été effectué après la fermentation alcoolique, au moment de l'écoulage. Le dernier prélèvement a été réalisé directement dans les bouteilles après environ 5 mois de stockage à 15°C. Dès lors que le pDMS est quantifié dans les vins, le dosage du DMS libre a été effectué afin de le soustraire au pDMS. La **Figure 65** représente les valeurs initiales du pDMS (moûts) ainsi que les valeurs obtenues après FA et dans les vins finis.

Les teneurs en pDMS mesurées dans les moûts sont de l'ordre de 1000 à 2000 µg/L. Après la fermentation alcoolique, les teneurs en pDMS mesurées dans les vins sont de l'ordre de 100 µg/L soit 10 fois plus faibles que celles mesurées dans les moûts. Le DMS était non détecté dans les vins par la méthode. Cette observation coïncide avec celles de différents auteurs, qui ont montré que les concentrations en DMS à la mise en bouteille étaient inférieures aux seuils de détection. Le DMS libéré lors de la fermentation alcoolique serait largement perdu pendant cette étape (de Mora et al., 1987; Anocibar Beloqui, 1998; Segurel et al., 2004). Ensuite, nous constatons, que pour une fermentation menée sans ajout d'azote exogène, le pDMS est largement affecté. Une diminution de 90% est observée pendant la FA et il existe une redistribution complète du pDMS après fermentation alcoolique. En effet, pour les modalités « effeuillage précoce », des écarts significatifs apparaissent après cette étape. Ensuite, il semblerait aussi que ce ne soit pas les jus les plus riches en azote assimilable qui donnent les vins les plus riches en pDMS après la FA. La modalité « effeuillage précoce soleil couchant » est celle dont les teneurs en pDMS après la FA sont les plus élevées et pourtant, au départ, il s'agissait de la modalité

avec un niveau d'azote assimilable le plus faible. Il existe alors des effets de lissage des différences viticoles par la FA.

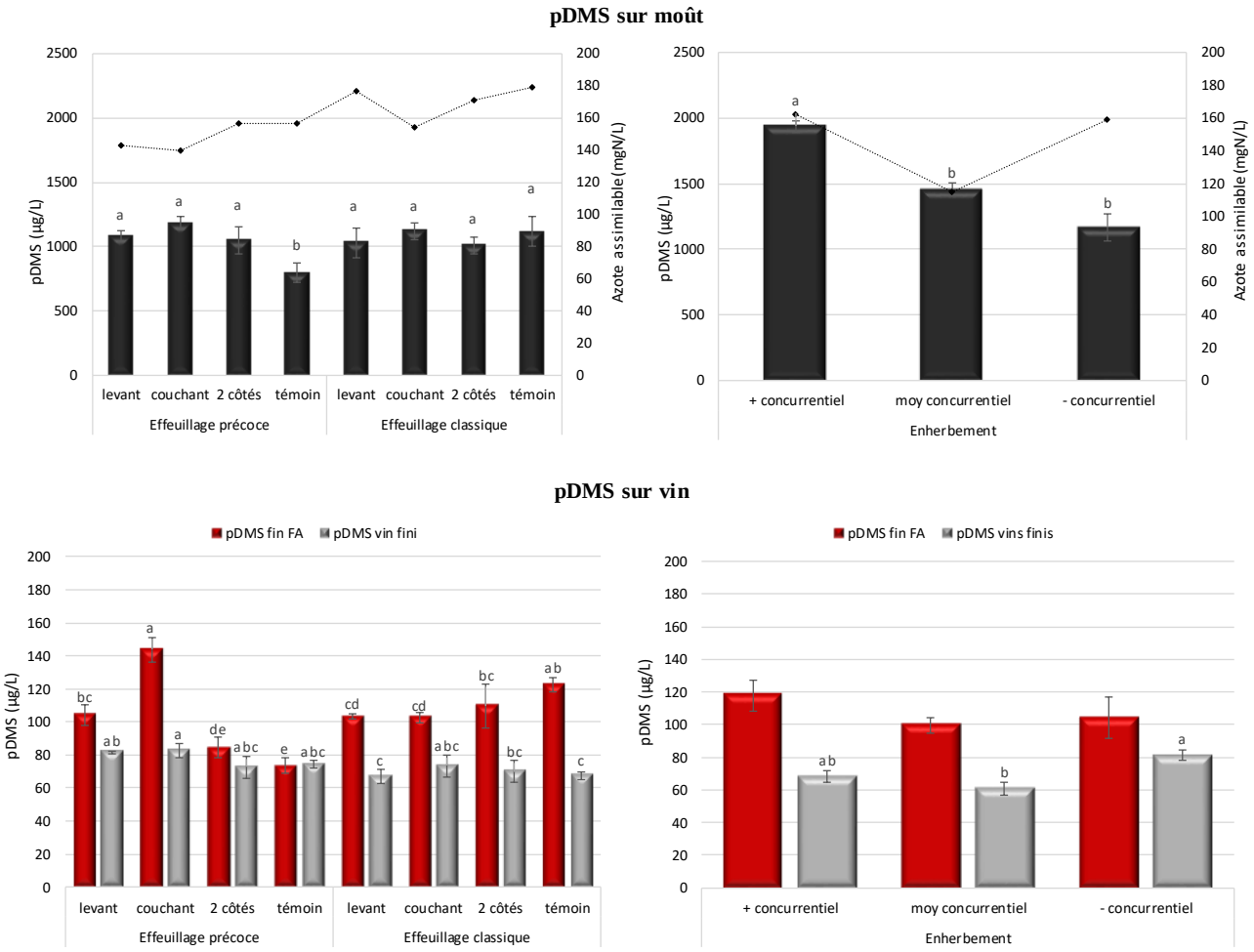


Figure 65. Teneurs en pDMS (µg/L) des différents vins issus de l'essai « effeuillage et enherbement » au cours des différentes étapes de la vinification (pDMS sur moût : histogrammes noirs ; pDMS sur vin après la FA : histogrammes rouges ; pDMS sur vin fini après 5 mois de vieillissement en bouteille : histogrammes gris). Les barres d'erreur indiquent les écarts-types des triplicats de dosage.

Enfin, les teneurs en pDMS sur vin fini et après 5 mois de vieillissement en bouteille à 15°C ont été dosées. Elles sont semblables à celles obtenues dans les vins après la FA. La diminution du pDMS entre la fin de la FA et la fin de la petite période de vieillissement peut être causée par l'action des bactéries lactiques ou bien par l'hydrolyse du DMS depuis son précurseur. Cependant, les teneurs en DMS mesurées sont très faibles (aux alentours de 5 µg/L et non montrées ici) et largement inférieures à la différence observée entre la FA et le vin fini pour plusieurs modalités (effeuillage levant, couchant, témoin pour l'effeuillage classique). De plus, certains auteurs ont montré que l'hydrolyse du DMS

depuis la SMM était davantage marqué à 28°C qu'à 14°C (Deed et al., 2019). Nous supposons alors qu'à 15°C et pendant 5 mois, cet effet soit négligeable.

Globalement, pour cet essai sans azote ajouté, la perte moyenne de pDMS pendant la fermentation alcoolique est de 94%. Il ne reste alors, à la mise en bouteille, que 6% de pDMS capable de libérer du DMS lors du vieillissement. On comprend alors qu'une maîtrise de cette perte est une priorité.

3.1.2 Vinification avec réajustement en azote assimilable

En 2018, les raisins issus d'une autre expérimentation « terrain » ont été vinifiés. Il s'agit de l'essai « effeuillage et échardage » présenté dans le chapitre précédent (**Figure 52**). Cette fois-ci, des microvinifications de ces modalités en erlenmeyers de 2 L et en cuves de production ont été effectuées par le Château partenaire. L'itinéraire technique de la maison a été suivi pour réaliser ces fermentations. L'azote assimilable a été réajusté grâce à l'ajout d'azote minéral, lors de la vinification. En revanche, nous n'avons pas connaissance du produit utilisé, ni des ajustements réalisés. Dans cet essai, notre contribution a été de doser le pDMS et le DMS dans les vins issus des essais après FA et après FML. Comme pour l'essai précédent, le pDMS initial quantifié dans les moûts a déjà été présenté (**Figure 62**). La dynamique du pDMS observé lors de cette expérimentation est représentée sur la **Figure 66**.

Les résultats obtenus sont similaires à ceux de l'essai mené sans réajustement de l'azote. La majorité du pDMS est perdu pendant la fermentation alcoolique (moyenne de 88%, tous cépages confondus). Le même constat est fait pour les vins issus des cuves et les vins issus des microvinifications en erlenmeyers. Ce phénomène existe bien à l'échelle d'une vinification classique. Ensuite, il n'existe pas d'effet du cépage dans la disparition du pDMS. De plus, encore une fois, ce dernier est complètement redistribué après la FA. Les modalités les plus riches au départ (pour le merlot, M4-TT), ne sont pas celles qui sont le plus riches à l'arrivée (pour le merlot, M2-TP et dans une moindre mesure M4-TP si on prend en compte la variabilité de l'écart-type). Par contre, cet effet de redistribution est moins visible pour les vins de cabernet-sauvignon.

Les vins finis présentent des teneurs en pDMS légèrement plus faibles qu'après la FA, mais la tendance est la même que celle observée dans le précédent essai. Il y a redistribution du pDMS et finalement, les écarts visibles sont lissés pour n'obtenir *in fine,* aucune différence significative entre les modalités. De plus, le DMS quantifié dans ces vins étaient de l'ordre en moyenne de 10 µg/L pour le merlot et de 5 µg/L pour le cabernet-sauvignon (non montré ici). Cette différence de concentration apparue entre les deux cépages, nous laisse supposer qu'il existe une cinétique d'hydrolyse du précurseur assez différente en fonction des matrices de vins.

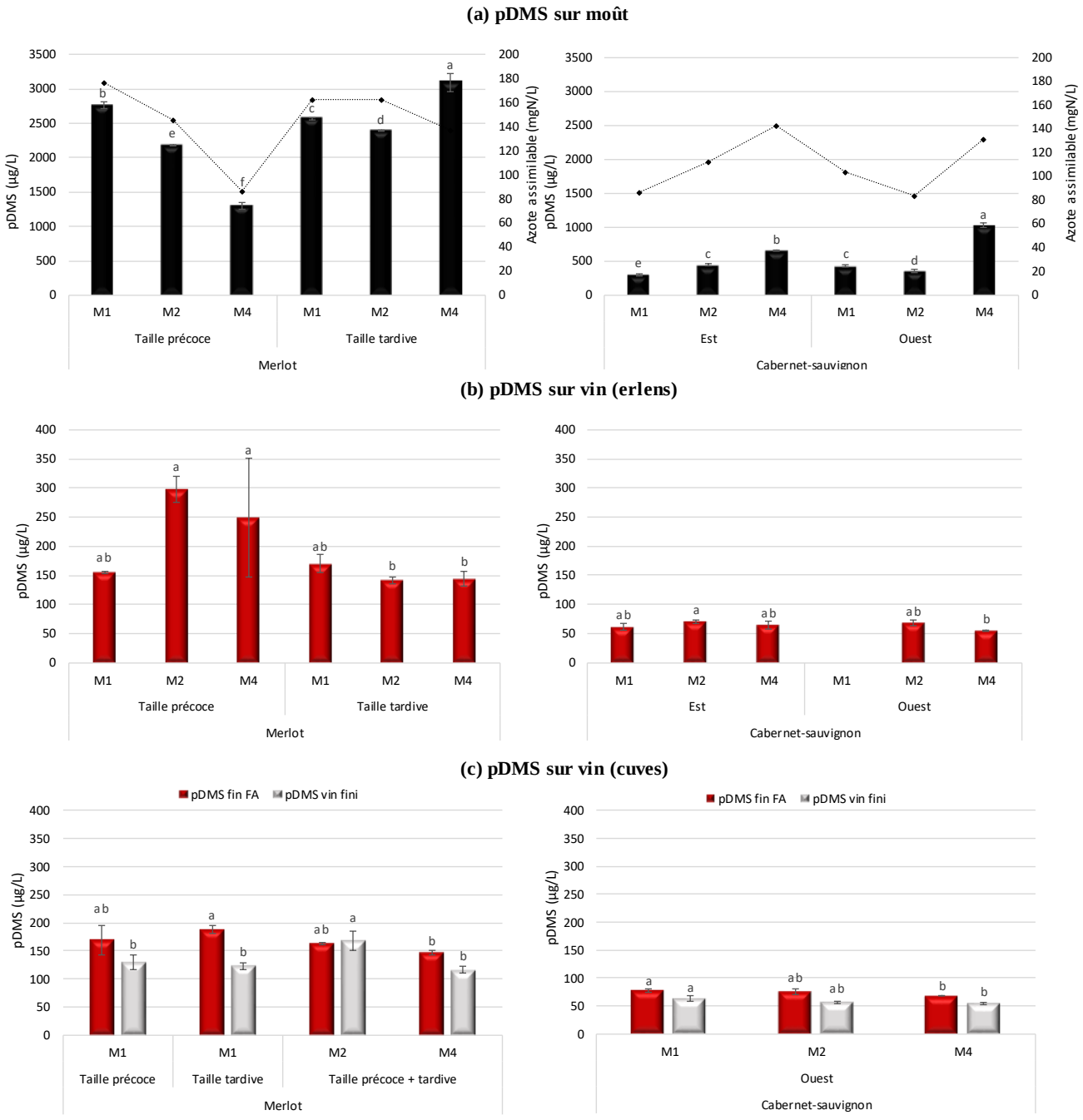


Figure 66. Teneurs en pDMS (µg/L) des différentes modalités de l'essai « effeuillage et échardage » au cours de la vinification. **(a)** pDMS sur les moûts de merlot (gauche) et cabernet-sauvignon (droite) ; **(b)** pDMS sur vin après FA en erlenmeyers de 2 L pour le merlot (gauche) et cabernet-sauvignon (droite) ; **(c)** pDMS sur vin après FA et vins finis en cuves pour le merlot (gauche) et cabernet-sauvignon (droite). Les barres d'erreur indiquent les écarts-types des triplicats de dosage.

Ces premiers essais, menés à l'échelle d'unités de production viticole, nous ont permis de constater que l'étape de fermentation alcoolique est cruciale dans la modulation du pDMS. Une grande partie de celui-ci est perdue pendant la FA et les pourcentages de perte atteignent en général 90% que ce soit pour des moûts carencés ou non en azote assimilable. Ces observations rejoignent les études menées par Dagan

(2006) sur les moûts blancs de petit et gros manseng mais aussi les observations de Segurel et al. (2004) sur des moûts rouges de grenache et syrah de la vallée du Rhône. Désormais, un retour à une approche mécanistique semble intéressant, afin de comprendre à quel moment la perte en pDMS a lieu et dans quelles conditions. Puis, d'observer si cette perte est réellement causée par les microorganismes ou par les effets d'autres paramètres. De nombreux auteurs ont supposé que la majorité du pDMS était représenté par la *S*-méthylméthionine (SMM) (Segurel et al., 2005; Loscos et al., 2008), notre réflexion sera alors portée sur la SMM comme composante principale du pDMS.

3.2 Fermentations en milieu synthétique

Cette deuxième sous-partie présente des résultats issus de fermentations à l'échelle « nano » menées au laboratoire dans des fermenteurs de 125 mL. Les plans expérimentaux du laboratoire permettent de multiplier les essais sans attendre la session des vendanges et de maîtriser la composition de la matrice, afin d'espérer comprendre les mécanismes avant de mettre en place des essais à l'échelle de la production. Ensuite, comme le vin est une matrice complexe, nous avons souhaité réaliser, dans un premier temps, ces essais en milieu synthétique. Cela permet de s'affranchir de la diversité de la matrice.

3.2.1 Effet du dégagement gazeux pendant la fermentation alcoolique sur le pDMS

Dans un premier temps, nous avons souhaité nous assurer que cette perte en DMS pendant la fermentation était causée par l'action des microorganismes et non pas par l'unique flux dû au dégagement du CO_2. En effet, lors des fermentations, le CO_2 dégagé engendre des effets de « bullage » qui pourraient modifier l'équilibre DMS/SMM (**Figure 36**). La température d'ébullition du DMS étant faible (37°C sous 1 bar), ce composé est considéré comme très volatil.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons confectionné des matrices modèles de moût, de vin et une matrice qui représente l'équivalent d'une demi fermentation. Ces solutions ont été supplémentées en SMM pour avoir des concentrations définies et facilement détectables par les méthodes de quantification. Nous avons ensuite, positionné les échantillons sous un flux d'azote. L'action de l'azote dans le milieu pouvait simuler les conditions de « bullage » et de dégagement de CO_2 pendant la fermentation alcoolique. Le recours à une arrivée de CO_2 n'était pas aisé au laboratoire. Le pDMS a été quantifié au moment de l'ajout (t = 0 h) donc sans bullage. Ensuite, un prélèvement d'échantillons a été réalisé après 1 h 30 et après 3 h de bullage puis le pDMS a été quantifié. Les résultats présentés sur la **Figure 67** montrent l'évolution du pDMS au cours de 3 h sous flux d'azote pour les trois matrices étudiées.

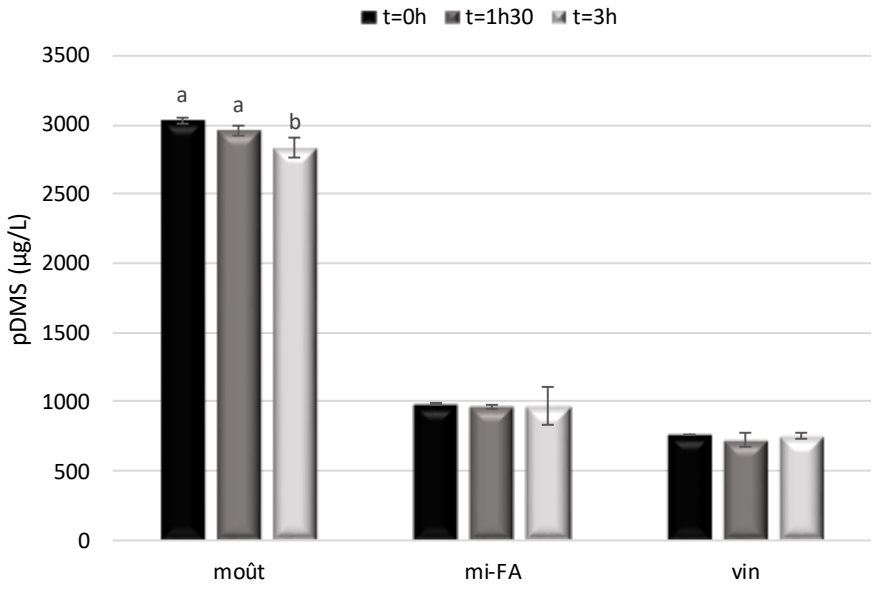


Figure 67. Évolution des concentrations en pDMS (µg/L) dans les échantillons de moût, mi-fermentation et vin modèle soumis à l'action d'un flux d'azote pendant 1 h 30 et 3 h. Les barres d'erreur indiquent les écarts-types des triplicats de dosage.

Sur la matrice mi-FA et la matrice vin, l'effet du « bullage sous azote » n'altère pas les concentrations en pDMS. Celui-ci reste stable tout au long de l'essai. Nous pouvons conclure qu'il n'y a pas de mécanisme de libération/entraînement sans action des microorganismes. Nous conservons l'hypothèse de la diminution du pDMS pendant la vinification serait donc causé par l'action des microorganismes comme cela avait déjà été postulé dans d'autres études (Dagan and Schneider, 2013).

3.2.2 Impact de différents niveaux d'azote assimilable sur le pDMS

Ce premier essai en milieu synthétique était consacré à reproduire trois niveaux d'azote assimilable qui pourraient symboliser des conditions de carence très élevée (40 mgN/L), carence classique (120 mgN/L) et non carencée (240 mgN/L). La nature de l'azote dans les différentes modalités était le ratio classique (2/3 acides aminés, 1/3 ammonium). L'objectif était de visualiser comment le pDMS allait évoluer en fonction de ces trois niveaux, comment il pouvait être perdu et à quel moment de la fermentation. Le souhait d'utiliser la même levure que pour l'essai microvinification au plateau (F33) n'était pas possible. Nous avons alors opté pour une autre levure commerciale, couramment utilisée dans les Châteaux du bordelais pour réaliser les fermentations (FX10). Les résultats concernant les teneurs en pDMS quantifiées dans les trois modalités au début, mi-FA et fin FA sont représentés à la **Figure 68**. Cependant, il faut noter que la modalité à 40 mgN/L n'a pas atteint le terme de la fermentation alcoolique. Sur le graphique le troisième prélèvement est noté « fin FA » mais en réalité, celle-ci s'est arrêtée à 60%.

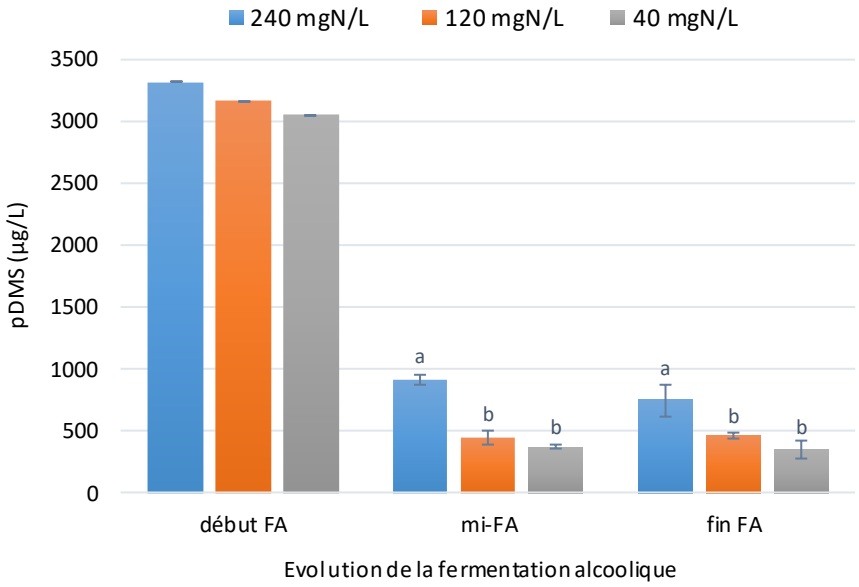


Figure 68. Dynamique d'évolution du pDMS dans les modalités non carencée (240 mgN/L), carencée (120 mgN/L) et très carencée (40 mgN/L) au cours de la fermentation alcoolique. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats biologiques.

Les résultats montrent que, globalement, la diminution du pDMS a lieu essentiellement entre le début et le milieu de la FA. Cette diminution s'observe pour chacune des modalités. Ensuite, entre le milieu de la FA et la fin de la FA, les teneurs en pDMS restent stables pour chacune des modalités. Comme attendu, la diminution du pDMS existe dans toutes les modalités. Cependant, les carences (pour 120 et 40 mgN/L) induisent des diminutions du pDMS plus marquées. Des différences significatives entre les teneurs de la modalité à 240 mgN/L et les deux autres modalités carencées sont observées.

En conclusion de cet essai, on constate que quel que soit le niveau d'azote dans le milieu, le pDMS est perdu au début de la fermentation alcoolique. De plus, des niveaux bas et carencés en azote assimilable accentuent la perte du pDMS. Ces observations rejoignent celles que l'on avait faites sur les essais du vin :

- chute du pDMS pour les modalités carencées et réajustées en azote ;
- perte en DMS plus marquée lorsqu'il y a moins d'azote assimilable dans le milieu.

3.2.3 Impact de la nature du réajustement en azote sur le pDMS

Au vu des résultats précédents, nous avons souhaité mener une deuxième expérimentation en modulant la nature de l'azote réajusté. Les pratiques des vinificateurs sont multiples en termes de moment d'ajout de l'azote (début de FA ou en cours de FA) ainsi que de la nature de l'azote ajoutée (minéral, écorces

de levure ou les deux). L'ajout d'azote minéral, grâce à des préparations de phosphate ou sulfate d'ammonium, reste un recours très classique en condition de production. Ces pratiques sont guidées par quelques travaux scientifiques mais aussi par l'empirisme (Bely et al., 1990, 1994). Il existe des cas où l'ajout d'azote organique par le biais d'autolysats de levures est réalisé. Initialement, ces autolysats étaient destinées à limiter la présence d'acides gras toxiques pour la levure ou bien à stimuler les fermentations alcooliques et malolactiques grâce à l'apport de nutriments telles que les protéines par exemple (Lafon-Lafourcade et al., 1984; Larue et al., 1984; Lonvaud-Funel et al., 1985). Nous avons souhaité, dans cet essai, étudier l'influence de la nature d'azote lors des réajustements sur les teneurs en pDMS au cours de la fermentation alcoolique. Pour cela, des réajustements à 200 mgN/L à base d'azote minéral, organique et à base d'une préparation d'autolysats de levures (Nutristart® Org) ont été effectués. Ils sont comparés à une modalité dite « classique », réajustée à 200 mgN/L avec 2/3 d'acides aminés et 1/3 d'azote minéral. L'ajout de SMM dans chacune des modalités est équivalent à l'ajout réalisé sur le premier essai. Les teneurs du pDMS mesurées au départ se situent aux alentours de 3000 µg/L. Ensuite, celui-ci a été quantifié aux mêmes stades que lors de l'essai précédent, mais un point supplémentaire a été ajouté. Il correspond à 20% de la FA, ce qui est équivalent à la phase de croissance des levures. Les résultats sont présentés sur la **Figure 69**.

Les résultats montrent l'évolution du pDMS au cours de la fermentation alcoolique pour les 4 modalités (M1, M2, M3, M4), ainsi que pour la modalité du témoin non inoculé (moût de départ correspondant à la modalité M1). Les concentrations du pDMS mesurées au cours de la fermentation montrent que pour les modalités réajustées, la perte en pDMS (moyenne de 66%) se fait au début de la vinification lorsque les levures sont en phase de croissance, soit dans les 36 à 48 h après inoculation. Ensuite, la dynamique du pDMS reste stable. Globalement, la nature de l'azote utilisée pour le réajustement, n'influence pas la préservation du pDMS au cours de l'avancée de la FA. Aucune différence n'est observée entre les modalités, mis à part pour la modalité M4 dont les teneurs en pDMS sont, tout au long de la FA, significativement inférieures aux teneurs mesurées dans les autres milieux. Ce produit à base d'autolysats de levures serait à écarter pour de futurs essais, car son efficacité n'est pas en corrélation avec nos objectifs de préservation du pDMS.
Concernant le témoin non inoculé, ce dernier a seulement été agité à 250 rpm et 24°C (comme les autres fermenteurs) pendant le déroulement de la fermentation alcoolique. Les prélèvements pour le suivi du pDMS ont été réalisées seulement à 0, 50% et 100% de la FA. Les résultats montrent que les concentrations en pDMS restent globalement identiques à celles mesurées initialement. La quantification du pDMS dans ces échantillons permet de compléter les résultats des essais sous flux d'azote présentés ci-dessus (paragraphe 3.2.1, page 240). Elles confirment que les méthodes physiques ne permettent pas de libérer le DMS depuis la SMM. La perte en pDMS est donc principalement causée par l'action des microorganismes.

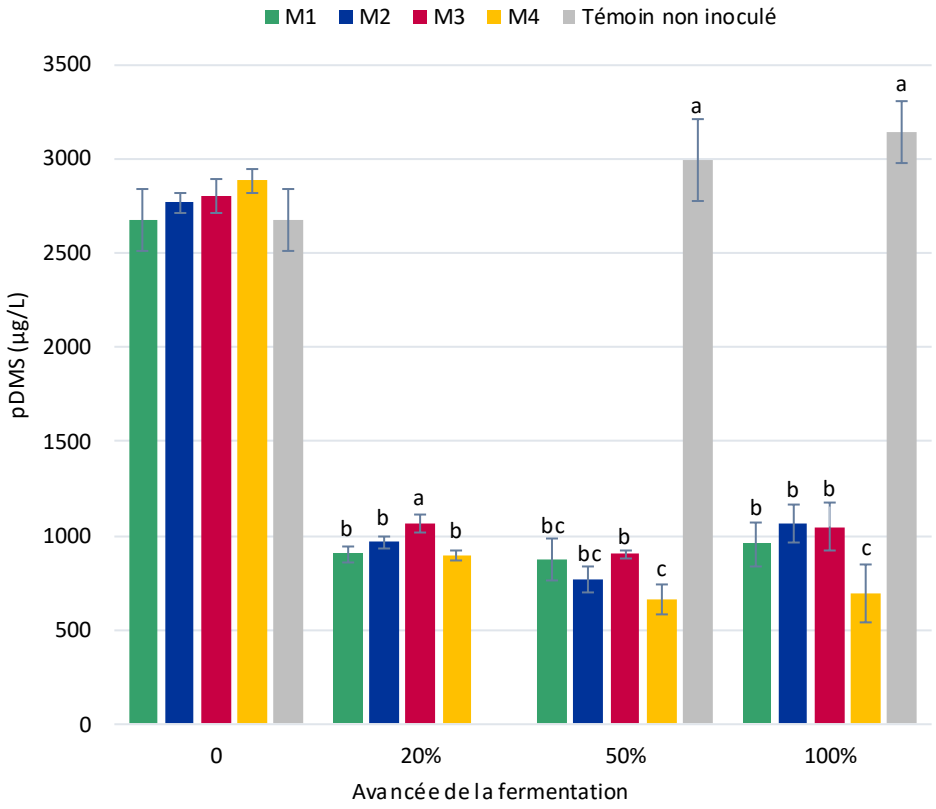


Figure 69. Effet de la nature de l'azote de réajustement sur l'évolution des teneurs du pDMS (µg/L) au cours de la fermentation alcoolique. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats biologiques.

*Les modalités : **M1 :** réajustement classique (1/3 ammonium, 2/3 acides aminés), **M2 :** réajustement en ammonium, **M3 :** réajustement en acides aminés, **M4 :** réajustement avec une préparation à base d'autolysats de levures, **Témoin non inoculé** : moût de départ*

En conclusion, dans le cadre de notre essai, il n'y a pas d'effet de la nature de l'azote ajoutée sur la consommation du pDMS pendant la fermentation alcoolique. Toutefois, la modalité « autolysats de levures » induit une consommation plus importante du pDMS. Malheureusement, en production, il s'agit de ce type de préparation qui est utilisé pour réajuster l'azote des jus par de l'azote « organique ». Un travail sur les quantités est à envisager en vue d'un transfert. De plus, la composition de ces préparations est mal connue. Ce point mériterait d'être approfondi en conditions réelles de production.

4. DISCUSSION, CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Des travaux antérieurs avaient déjà observé cette perte importante du pDMS lors de l'étape de vinification (Segurel et al., 2004; Dagan, 2006). Nous avons également montré cette perte importante lors de la fermentation alcoolique de moûts de merlot et cabernet-sauvignon. Cette action est causée par le métabolisme microbien qui utilise le pDMS comme une source d'éléments. La SMM contient un atome d'azote et un atome de soufre donc nous avions supposé que la composition en azote des jus pouvait influencer cette perte. Au vu des pertes en pDMS dans des jus fermentés plus ou moins riches en azote, on comprend qu'il ne s'agit pas du bon paramètre. Nous avions envisagé de produire des jus synthétiques carencés en acides aminés sulfurés (cystéine et méthionine) afin de chercher à comprendre si la SMM peut être utilisée par la levure comme source de soufre (siège de la résistance au stress oxydant de nombreux organismes dont les levures (Penninckx, 2002)).

Les travaux de Deed et al. (2019), ont observé que, sur vins finis, la concentration en DMS produite était plus élevée que celle qui a été produite chimiquement dans les témoins. Cela implique l'action des microorganismes. En effet, la SMM, ce dérivé d'acide aminé, peut être considérée comme une source azotée pour la levure. Les travaux de Rouillon et al. (1999) ont montré que la levure *Saccharomyces cerevisiae* était capable de transporter la SMM dans la cellule par le biais de deux perméases, ce qui lui permettrait d'utiliser ce composé comme source de soufre. De plus, dans le fromage, il a été prouvé que la SMM peut-être dégradée par les microorganismes à 25°C pour former du DMS (Spinnler et al., 2001). Dans des conditions de manque de nutriments et de stress, la SMM pourrait constituer une source de soufre ou d'azote pour la levure. Cette hypothèse a été étudiée dans la bière par Gibson et al. (1985) qui montrait, qu'en conditions de manque d'azote, la SMM est dégradée par les levures, pour produire de l'homosérine ou de la méthionine comme produits de clivage et source d'azote. Le catabolisme de la SMM en DMS et en homosérine a aussi été suggéré dans le soja (Morisaki et al., 2014) et dans le maïs mi-cuit (Breeden and Juvik, 1992). La dégradation plus marquée du pDMS en conditions de carence azotée, comme cela était visible sur notre essai, pourrait être le résultat de ce catabolisme. De plus, un effet souche a été observé dans plusieurs études concernant l'évolution de la SMM ou du pDMS. L'assimilation de la SMM par les souches de levures serait différente, ce qui induirait une perte en pDMS variable et donc, une quantité de DMS formée qui diffère (Dagan and Schneider, 2013; Deed et al., 2019).

En outre, si l'outil de mesure du pDMS a permis d'évaluer rapidement les dynamiques, un dosage précis de la SMM aurait été idéal pour suivre l'évolution directe du précurseur du DMS. Malheureusement, nous n'avions pas à ce jour de méthode de dosage effective.

Récemment, les travaux de Deed et al. (2019) ont montré que le DMS pouvait être formé, à la fois grâce à l'hydrolyse de la SMM (voie chimique) et grâce aux levures pendant la fermentation (voie biologique).

En effet, d'une part, ces travaux ont montré que du DMS était produit dans des moûts sans inoculation (témoins) et de manière plus importante à 28°C qu'à 14°C. Un suivi d'un ajout de SMM marqué au deutérium dans des moûts de sauvignon blanc sans inoculation et incubés à température de 28°C, pendant un temps équivalent à une fermentation a ensuite été réalisé. Cela a montré qu'il se produit une conversion de la SMM en DMS grâce aux marqueurs de deutérium qui sont maintenus dans la molécule de DMS résultante. Cela signifierait que la formation chimique de DMS à partir de la SMM, sans aucune implication de micro-organismes, se produirait *via* la décomposition de la SMM en homosérine et en DMS. Les conditions de températures sont cruciales dans l'évolution de la SMM et sa conversion en DMS. Les conditions de stockage sur l'évolution des précurseurs des molécules du vieillissement peuvent encore être soulignées ici.
D'autre part, des démarches de pilotage pour maîtriser les teneurs en pDMS dans les vins ont été menées sur des moûts modèles et des moûts de petit, gros manseng et syrah (Dagan and Schneider, 2013). Ces études ont montré que sur les moûts blancs, des opérations pré-fermentaires de macération et de stabulation sur bourbes ont entraîné un léger gain sur vin fini par rapport au témoin (sans traitement). De plus, l'apport azoté exogène lors des fermentations a quelque fois limité la perte en pDMS. Mais, ces effets étaient observés seulement sur un type de moût et pour une seule des souches testées. Ces essais n'ont pas spécialement été concluants. Dans notre étude, les réajustements en azote assimilable avec des natures d'azote différente n'a pas non plus été efficace sur la préservation du pDMS. Cependant, le résultat sur les bourbes obtenu par Dagan and Schneider (2012), nous invite à visiter les influences des matières solides des vins (bourbes et lies en particulier) sur la préservation du pDMS.

Les démarches d'essais de préservation du pDMS (pilotage et laboratoire) montrent que, le fait d'éviter les carences azotées est indispensable à la gestion du potentiel en DMS, mais qu'en l'absence de carence, d'autres leviers doivent être activés. D'autre part, l'étape de fermentation est le tournant du devenir du DMS au vieillissement puisque cette étape module totalement les teneurs de son précurseur. La double conversion du pDMS (hydrolyse chimique et microbiologique), rend difficile sa maîtrise directe dans les unités de production grâce à des outils techniques. La maîtrise de ce pDMS serait probablement plus réalisable après avoir caractérisé les mécanismes majeurs de sa modulation lors de la FA. La littérature et de récents travaux permettent d'engager cette réflexion.
Dans un futur proche, des essais sont à mener.

- Mise en place d'une méthode HPLC-MS pour le dosage combiné des acides aminés libres et de la SMM. Cette méthode a commencé à être testée au laboratoire. Elle pourrait permettre également de quantifier la méthionine avant et après fermentation alcoolique afin de vérifier les hypothèses de Deed et al. (2019). L'homosérine pourrait être incluse dans la méthode pour également suivre son évolution.
- Utilisation d'une SMM marquée pour continuer à caractériser de manière ciblée l'évolution de ce précurseur lors de cette étape. Ce point est en cours de discussion avec le Dr. Svitlana Poix

(Bordeaux Sciences Agro – ISM) et pourrait être réalisé assez rapidement. Ces outils pourraient permettre de caractériser de manière quantitative la conversion de la SMM en DMS par voie chimique et par voie microbiologique.

Dans un futur plus lointain, une fois que les outils analytiques seront à disposition, des essais pourraient être menés.

- Réajuster le moût synthétique avec des quantités plus importantes en acides aminés soufrés afin de voir si la levure cible autant la SMM.
- Préparer un large plan expérimental avec de nombreuses souches de levures pour cibler laquelle ou lesquelles seraient moins consommatrice de SMM. La réalisation de nanofermentations dans des flacons de 20 mL est possible au laboratoire et pourrait être envisagée.

Enfin, une étude génétique pourrait être menée avec les microbiologistes spécialistes de ce domaine, afin de cibler les gènes des levures impliqués dans cette consommation du pDMS. Ce travail pourrait envisager la formation de levures mutantes non consommatrices de SMM et utilisables en laboratoire pour la compréhension des phénomènes microbiologiques, chimiques et sensoriels.

Chapitre 5. La libération du DMS au cours du processus de vieillissement du vin

1. INTRODUCTION

Comme précédemment évoqué, le DMS est une composante aromatique des vins qui s'exprime au sein des bouquets de vieillissement de nombreux types de vins (Picard, 2015; Le Menn, 2018). Il participe à typicité du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux grâce à ses notes de « truffe » et de « sous-bois ». Outre ses qualités organoleptiques dans les vieux vins, ce composé est reconnu pour être exhausteur de la composante « fruits frais » des vins (Anocibar Beloqui et al., 1996; Segurel et al., 2004; Escudero et al., 2007). Ce comportement d'exhausteur a été confirmé par les travaux de Lytra et al. (2014) et de Cameleyre (2017), qui ont démontré que l'action pré-sensorielle du DMS permettait d'augmenter les teneurs en esters dans l'espace de tête. Cette action du DMS en interaction avec les esters, influence l'expression fruitée des vins par l'augmentation des nuances « fruits noirs » et « cassis ». Au cours de la partie 1 de cette thèse (Chapitre 3, paragraphe 3.3.2, page 111), les résultats montraient que les teneurs en DMS mesurées dans les vieux vins de l'étude étaient corrélées à l'évaluation du descripteur « truffe » et au descripteur « fruits frais rouges et noirs » (**Figure 19**).

Après l'étape de vinification et une fois le vin en bouteille, l'hydrolyse du DMS depuis son précurseur opère. La molécule volatile est libérée et ses teneurs augmenteraient graduellement au cours des 10 premières années de vieillissement en bouteille (Segurel et al., 2004; Loscos et al., 2008; Le Menn, 2018). Le DMS libéré participerait aux caractères olfactifs précités. Cependant, plusieurs résultats amènent à poser l'hypothèse selon laquelle il existerait une forme liée du DMS dans les vins, en plus de la forme libre déjà connue.

- **D'un point de vue sensoriel**, au cours d'une dégustation, le DMS se comporte à la fois comme exhausteur et inhibiteur des notes aromatiques de façon successive et répétée. Ce composé confèrerait au vin un « polymorphisme sensoriel » potentiellement lié à la complexité des vins (Lytra et al., 2016). En outre, lors de manipulations du DMS et particulièrement lors d'ajouts dosés du DMS dans des vins, nous avons observé que l'odeur d'un vin dopé en DMS est beaucoup plus marquée par cette molécule que l'odeur d'un vin contenant naturellement la même quantité de DMS (mesurée par HS-SPME).
- **D'un point de vue analytique**, lors d'une étude préliminaire effectuée au laboratoire (Bouty, 2018), les teneurs en DMS quantifiées par SPME-GC-MS (agitation et chauffe de l'échantillon pendant l'extraction) sur des matrices de vin rouge jeune et vieux, rosé et blanc ont été confrontées aux teneurs

en DMS quantifiées par SHS-GC-FPD (sans agitation, molécules volatilisées dans l'espace de tête à température ambiante). La quantité de DMS mesurée par la méthode SPME est deux fois plus importante que par la méthode « static head space » ou SHS, uniquement pour la matrice vin rouge jeune (**Figure 70**).

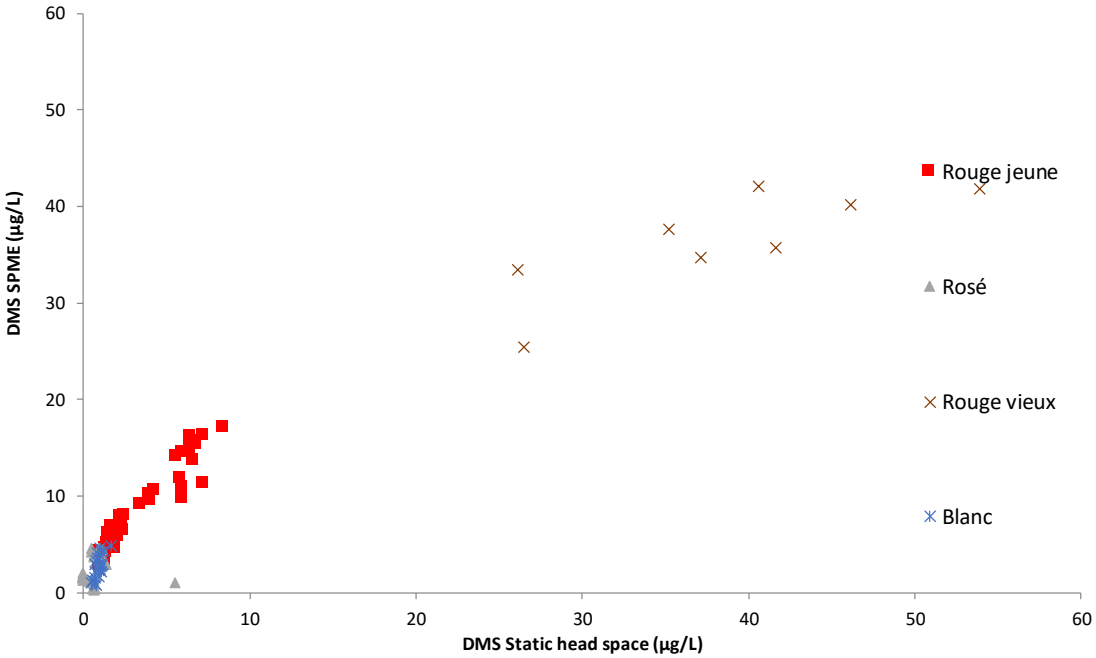


Figure 70. Comparaison des teneurs en DMS mesurées à l'aide de deux méthodes d'extraction (SHS et HS-SPME) (Bouty, 2018).

Au vue de la structure chimique de la molécule de DMS, nous comprenons qu'il s'agit d'une molécule dipolaire présentant une face chargée positivement et une face chargée négativement (**Figure 71**). Cette structure est très courante dans la nature, c'est d'ailleurs la structure de la molécule d'eau. Aussi, des formes liées pourraient être produites en solution aqueuse avec l'établissement de liaisons faibles électrostatiques avec des centres nucléophiles et électrophiles. Des liaisons faibles de type Van der Waals pourraient exister. Ces liaisons peuvent être rompues par des énergies de quelques kilojoules. Ainsi, nous avons posé l'hypothèse de l'existence de liaisons faibles entre le DMS et d'autre(s) composé(s) de la matrice vin, plus spécifiquement des polyphénols.

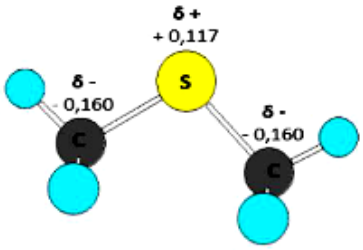


Figure 71. Représentation de la molécule du DMS et la localisation des charges électrostatiques (logiciel Chem-3D-pro).

L'objectif de ce chapitre est de vérifier l'existence de formes liées du DMS au sein de la matrice du vin rouge. Ensuite, nous chercherons à comprendre si ce comportement chimique influence les spécificités aromatiques du DMS, en particulier au cours de l'acte de dégustation des vins. Deux axes seront abordés :

- un axe chimie qui permettra de prouver ou non l'existence de formes différentes de DMS dans les vins ;
- un axe sensoriel qui permettra d'étudier le comportement du DMS dans différentes matrices et au cours de l'acte de service du vin pendant la dégustation.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

Mme Morgane Jouan a contribué aux travaux décrits dans cette partie, dans le cadre de son stage de M2 Sciences de la Vigne et du Vin de l'Université de Bordeaux. Son projet de stage s'intitulait « Optimisation de la méthode de dosage du pDMS et recherche de nouvelles formes du DMS dans les vins rouges et des mécanismes sensoriels associés » et s'est déroulé au cours du premier semestre 2019.

2.1 Dosage du DMS « libre » par SHS-GC-FPD

Le dosage du DMS dans l'espace de tête est effectué par SHS-GC-FPD selon la méthode mise au point par (Anocibar Beloqui et al., 1996).

Dans les flacons dits « piluliers » en verre de 125 mL sont introduits 100 mL d'échantillon. À ces 100 mL, sont ajoutés 10 µL d'une solution d'étalon interne (thiophène à 518 mg/L dans eau/éthanol 50% v/v). Le flacon est ensuite homogénéisé puis fermé hermétiquement avec une capsule munie d'un septum téfloné d'épaisseur 3 mm et de diamètre 20 mm. Après 24 h d'équilibration des phases (espace de tête et liquide) à température ambiante (22°C) et à l'abri de la lumière, 1 mL de l'espace de tête gazeux de l'échantillon est prélevé à l'aide d'une seringue de 5 mL puis injecté dans l'injecteur de CPG selon la technique de l'head space statique (HS). Le DMS est dosé par un chromatographe en phase gazeuse HP-5890 couplé à un détecteur à photométrie de flamme en mode soufre. Les conditions chromatographiques sont présentées dans le **Tableau 44**. Les teneurs en DMS sont calculées par rapport à une courbe de calibration réalisée après ajout de DMS en quantités croissantes dans la matrice adaptée à chaque essai (solution modèle de vin, vin rouge jeune, vin blanc). Les coefficients de calibration sont présentés en annexe 15.

Tableau 44. Conditions d'injection et d'analyse pour le dosage du DMS par SHS-GC-FPD.

Appareil : HP-5890 (Hewlett Packard)		
HS		1 mL de l'espace de tête introduit dans l'injecteur manuellement. Température injecteur : 70°C ; température de l'interface : 150°C
GC-MS	*Colonne chromatographique*	HP5 (SGE), 30 m × 0,53 mm (d. i.) × 5 µm (e. f.)
	Programme de température	30°C pendant 1 min puis 10°C/min jusqu'à 100°C puis 20°C/min jusqu'à 180 °C.
	Débit du gaz vecteur	Hydrogène à 1,0 mL/min
	Détection	FPD, température du détecteur : 200°C. Détection à 393 nm.

2.2 Étude de l'effet des composés phénoliques sur le DMS « libre »

2.2.1 Étude cinétique de la sorption du DMS en solution modèle « vin »

Pour ce premier essai, 3 fractions de tanins ont été étudiées. Ces tanins sont de type B, non oxydés et extraits de pépins de raisins. Ils peuvent être assimilés aux tanins des vins jeunes. Ces préparations ont été réalisées et fournies par le Dr. Michael Jourdes (UR œnologie – ISVV – Université de Bordeaux). Trois fractions ont été choisies pour l'étude.

- Fraction T1 : majoritairement constituée à 80% de monomères et de dimères de tanins ;
- Fraction T2 : semi-purifiée majoritairement formée d'oligomères de tanins avec des DPm de 3 à 4 ;
- Fraction T3 : semi-purifiée majoritairement formée d'oligomères de tanins avec des DPm de 7 à 8.

Ces tanins ont été dilués en solution modèle de vin (eau/éthanol 12% v/v, 4 g/L d'acide tartrique, pH = 3,5). Pour chaque modalité, deux concentrations ont été étudiées : 2 g/L et 4 g/L. Ensuite, l'équivalent de 50 µg/L de DMS a été ajouté dans 100 mL de solution modèle pour chaque concentration de tanins (400 µL d'une solution de DMS à 26,8 mg/L dans 100% éthanol). Les solutions ont été introduites dans des flacons de 125 mL puis ils ont été sertis par un bouchon téfloné et d'une capsule métallique. Une

modalité témoin équivalente à la solution modèle de vin supplémentée en DMS et sans ajout de tanins a été également introduite dans l'expérience.

Un suivi du DMS présent dans l'espace de tête a été réalisé sur 15 jours. Pour cela, 1 mL d'espace de tête a été prélevé dans chaque pilulier. Ce gaz a été injecté dans un système de chromatographie en phase gazeuse décrit au paragraphe 2.1 (**Tableau 44**). Cette injection, en vue du dosage du DMS dans l'espace de tête, a été effectué 0, 5, 8, 11 et 15 jours après le mélange. Un flacon a été sacrifié à chaque injection. Au moment de la préparation des échantillons, le nombre de flacons nécessaire pour réaliser le suivi de chaque modalité de tanins aux deux concentrations a été confectionné. Le plan expérimental a été réalisé suivant le schéma présenté sur la **Figure 72**.

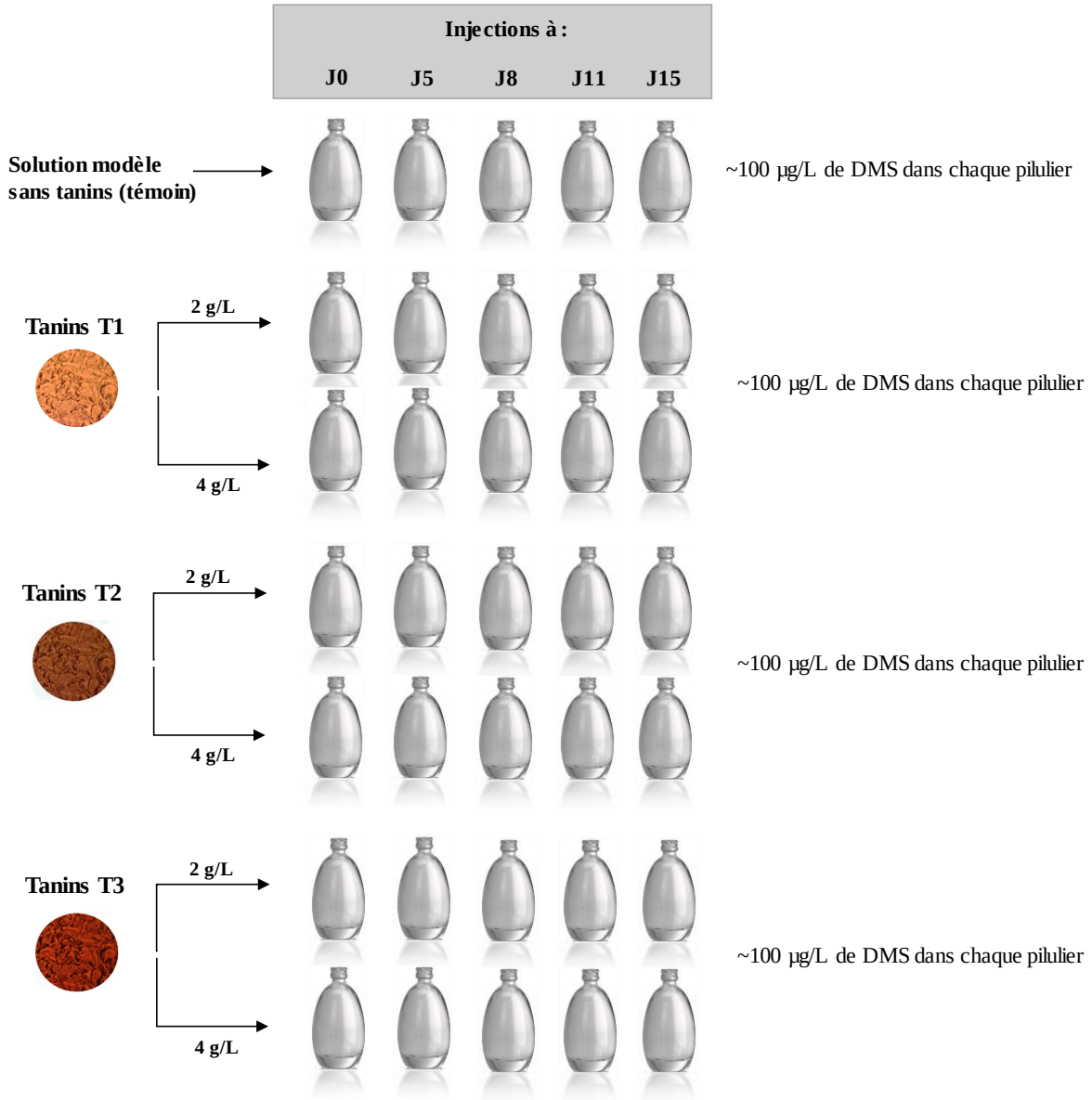


Figure 72. Plan expérimental mis en place pour l'étude des interactions DMS/tanins en solution modèle « vin ».

Dans un second essai, la même expérimentation a été reproduite seulement avec les tanins T3, en triplicats, afin de confirmer les premières observations. L'ajout de DMS dans les piluliers est de l'ordre de 100 µg/L (200 µL de solution de DMS à 50 mg/L dans 100% éthanol). Un suivi du DMS a été réalisé sur 15 jours mais avec des jours d'injection différents par rapport au premier essai. Le plan expérimental est schématisé sur la **Figure 73**.

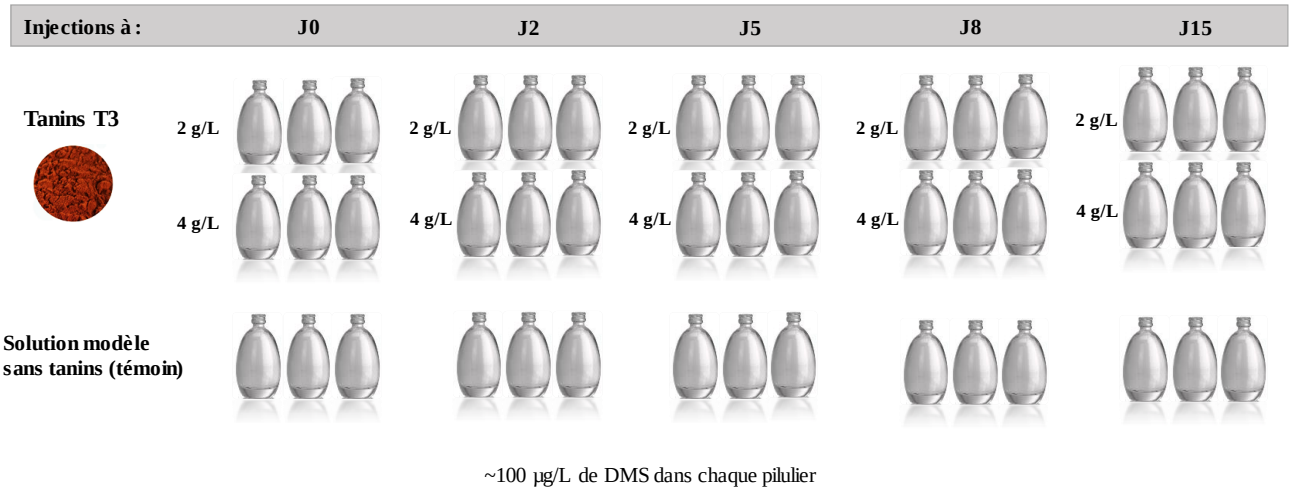


Figure 73. Plan expérimental avec les tanins T3 à 2 g/L et 4 g/L reproduit en triplicats sur 15 jours.

2.2.2 Étude du mode de sorption en solution modèle

Pour l'étude du mode de sorption du DMS sur les tanins, les concentrations en tanins et le temps de contact ont été fixés. Les quantités de DMS dans les échantillons varient. Les tanins utilisés pour cet essai sont les tanins T3 à 1 g/L et à 4 g/L. Les concentrations de DMS ajoutées étaient de 20, 40, 60, 80, 100 et 200 µg/L. Chaque échantillon a été réalisé en triplicats. Les injections et l'analyse du DMS dans l'espace de tête a été effectuée après 8 jours de contact à température ambiante et à l'abri de la lumière. Les modalités étudiées et le schéma expérimental suivi est représenté sur la **Figure 74**.

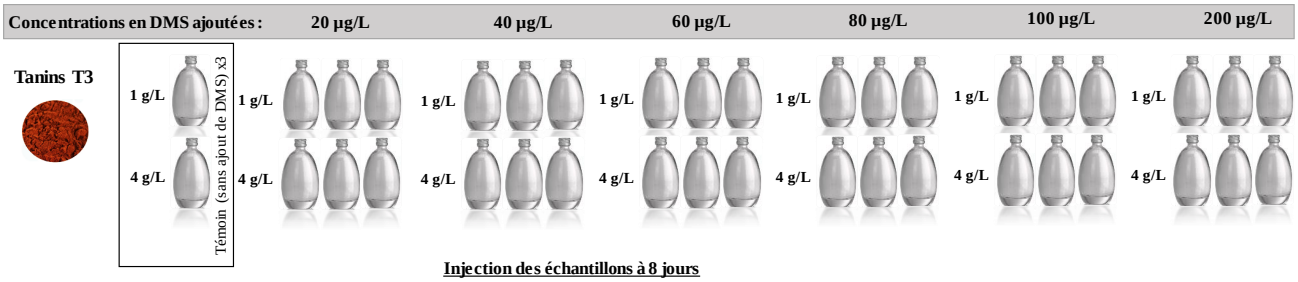


Figure 74. Plan expérimental mis en place pour l'étude du type de sorption à 8 jours pour des solutions modèle avec ajout de 1 g/L et de 4 g/L de tanins T3.

2.2.3 Étude de la sorption du DMS dans des vins commerciaux

Trois vins ont été utilisés pour cet essai.

- **Vin A : vin rouge jeune de 2019 –** vin rouge contenant 70% de merlot et 30% de cabernet franc issu de l'appellation Saint-Georges-Saint-Émilion.
  Caractéristiques de ce vin : vin jeune, pas de FML, pas de passage en barrique.
- **Vin B : vin rouge jeune de 2018 –** vin rouge contenant 100% merlot issu des microvinifications réalisée au plateau de nanovinification de l'ISVV en 2018.
  Caractéristiques de ce vin : vin jeune, riche en polyphénols, issus du millésime 2018, pas de contact avec le bois. Un an de stockage en bouteille à 15°C.
- **Vin C : vin de sauvignon blanc** - vin d'Espagne (A. Champaud) en bag in box de 5L.
  Caractéristiques de ce vin : matrice pauvre en polyphénols, antagoniste aux vins rouges. Intervient comme un « témoin ».

Pour cet essai, un ajout de DMS de 100 µg/L a été réalisé (200 µL d'une solution de DMS fraîchement préparée à 50 mg/L dans 12% éthanol v/v). Pour chaque vin étudié, un échantillon témoin (sans ajout de DMS) est préparé pour être injecté tout au long de la cinétique. Le DMS libre a été quantifié dans les échantillons témoins est soustrait aux échantillons avec supplémentation de DMS. Le suivi du DMS a été réalisé sur 30 jours. Les injections ont été réalisées à 0, 2, 5, 8, 12, 15 et 30 jours de contact. À chaque jour d'analyse, les échantillons ont été préparés en triplicats donc il y a eu 6 échantillons injectés pour chaque vin (3 témoins et 3 échantillons avec ajout de DMS).
Le plan expérimental est présenté sur la **Figure 75**. L'essai est mené sur une durée de 30 jours.

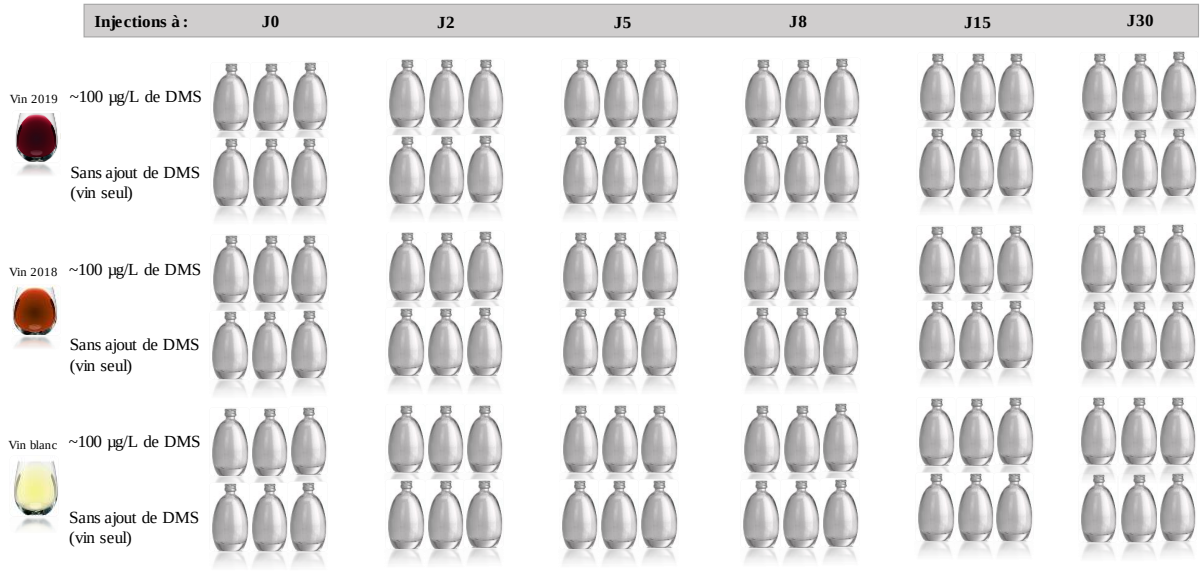


Figure 75. Plan expérimental mis en place pour l'étude de la cinétique du DMS sur 30 jours dans deux vins rouges et un vin blanc en triplicats.

2.3 Étude sensorielle des odeurs du DMS

Les exercices de dégustation ont été effectués dans la salle d'analyse sensorielle de l'UR œnologie – ISVV. Cette salle répond aux normes ISO 8589-2010.

2.3.1 Comportement sensoriel du DMS dans l'eau

Le panel de dégustation était constitué de 38 membres chercheurs de l'UR œnologie (22 femmes/16 hommes) d'âges compris entre 27 et 57 ans.

2.3.1.1 Préparation des échantillons et des solutions de références

❖ Modalités étudiées

Une série de solutions de DMS dans l'eau est réalisée représentant une gamme de 6 concentrations. Ces concentrations correspondent aux teneurs mesurées habituellement dans les vins, elles sont comprises entre 5 et 160 µg/L. Les ajouts de DMS sont réalisés dans des flacons SCHOTT® contenant 1 L d'eau ultrapure à partir de la solution de DMS à 26,8 mg/L. Les modalités sont préparées 24 h avant la dégustation puis elles sont fermées hermétiquement et conservées à 22°C à l'abri de la lumière. Chaque solution se voit attribuer un numéro aléatoire à 3 chiffres qui lui servira de code pour la dégustation. Les modalités et les codes attribués sont référencés dans le **Tableau 45**.

Tableau 45. Modalités étudiées et codes d'identification présentés lors de la dégustation pour l'étude du comportement sensoriel du DMS dans l'eau.

Modalités (DMS ajouté en µg/L)	**Codes d'identification**
5	935
10	667
20	242
40	738
80	170
160	431

❖ Dosage du DMS

Parallèlement, un dosage du DMS a été effectué pour chaque échantillon par SHS-GC-FPD selon la méthode présentée dans le paragraphe 2.1. Les échantillons ont été préparés le jour de la dégustation et injectés après 24 h d'équilibration.

2.3.1.2 Déroulement de la dégustation

L'exercice de dégustation débutait par l'entraînement olfactif. Afin de familiariser le panel avec les descripteurs aromatiques étudiés, un entraînement olfactif à la reconnaissance de 9 principaux descripteurs du DMS couramment cités dans la littérature a été préparé. Pour cela, des références odorantes ont été choisies pour être présentées à l'olfaction aux membres du panel en début de dégustation. Celles-ci sont issus de substances naturelles ou de produits alimentaires disponibles sur le marché. Des images ont été associées à ces descripteurs et placées devant le verre d'entraînement correspondant. Les références odorantes ont été introduites en verres INAO noirs recouverts de papier aluminium percé de quelques trous. L'ordre des références odorantes est présenté au **Tableau 46**. Il a été conçu pour ne pas saturer les dégustateurs avec les odeurs fortes (chou, surimi par exemple), dès le départ de l'exercice. Chaque photographie associée au descripteur aromatique de l'entraînement était placée à l'envers devant chaque verre. Il était demandé au dégustateur d'essayer d'identifier, à l'aide de son odorat, l'objet contenu dans le verre et de mémoriser l'odeur ressentie. Le dégustateur devait sentir les verres d'entraînement dans l'ordre du poste en prenant le temps nécessaire. Dès que l'odeur était mémorisée, il pouvait retourner l'image pour identifier/confirmer le descripteur.

Une fois l'entraînement effectué, l'exercice de dégustation pouvait démarrer. Les échantillons à déguster étaient installées sur 6 postes. Les dégustateurs devaient réaliser l'analyse olfactive des 6 postes en suivant l'ordre imposé sur leur fiche de dégustation. L'ordre de dégustation des verres variaient entre les participants. Étant donné que le DMS est une molécule volatile, les solutions étaient versées entre les passages des dégustateurs. Il leur était demandé de sentir le verre présenté et de cocher la ou les photographies qui leur semblaient associées aux odeurs perçues. Les mêmes images que celles de l'entraînement étaient placées sur les fiches de dégustation. Pour chaque solution sentie, le ou les descripteurs le/les plus adapté(s) étai(en)t choisi(s) par les membres du panel. Un extrait d'une fiche pour un échantillon est présenté en annexe 16.

L'analyse des résultats est faite à l'aide des calculs de fréquences de citations. Deux grandeurs sont évaluées.

- **La fréquence d'occurrence (FO) :** rapport entre le nombre de citations du descripteur considéré (NO) et le nombre total de descripteurs cités (N) (FO = NO/N).

- **Le pourcentage de dégustateurs ayant cités un même descripteur aromatique ou fréquence de partage (FP) :** rapport entre le nombre de dégustateurs ayant cité le descripteur considéré (NP) et le nombre total de dégustateurs du panel (N) (FP = NP/N).

Tableau 46. Entraînement aux descripteurs du DMS. Images et références odorantes présentées aux dégustateurs.

Descripteurs aromatiques	Images présentées à l'entraînement	Références odorantes
Fruits rouges et noirs		Fruits rouges et noirs décongelés (Picard Surgelés)
Truffe		Truffe noire fraîche (Agritruffe)
Cassis		Sirop de cassis (Moulin de Valdone)
Sous-bois		Mousse fraîche récoltée en forêt
Olives		Mélange olives vertes et noires en bocaux (Rustica)
Foin		Foin provenant d'écuries
Surimi		Surimi en bâtonnets (Marque Repère Leclerc)
Asperges		Asperges vertes et blanches en bocaux (Marque Repère Leclerc)
Chou		Choux de Bruxelles en conserve (Marque Repère Leclerc)

2.3.2 Comportement sensoriel du DMS dans des vins rouges de merlot et de cabernet franc

Un panel de 34 personnes composé de 23 femmes et de 11 hommes dont l'âge était compris entre 25 et 57 ans, se sont prêtés à l'exercice.

2.3.2.1 Préparation des modalités

Pour ce deuxième exercice de dégustation, deux vins rouges ont été utilisés :

- **un vin rouge 2018, 100% merlot** issu l'appellation Puisseguin-Saint-Émilion ;
- **un vin rouge 2018, 100% cabernet franc** issu de l'appellation Puisseguin-Saint-Émilion.

Ces deux vins sont issus de la même propriété viticole. Ils ont été vinifiés en cuve inox dans les mêmes conditions. Lorsque les vins ont été prélevés (vins primeurs conditionnés en bag in box), les FML n'avaient pas été accomplies, les vins avaient été sulfités à 5 g/hL. Aucun vin n'avait subi d'élevage en barrique de chêne par contre, des copeaux de chêne non chauffés avaient été ajoutés lors de l'encuvage, à hauteur de 2 g/hL de jus.

Du DMS a été supplémenté avec les mêmes concentrations que celles étudiées lors de la dégustation du DMS dans l'eau. Les ajouts de DMS sont réalisés dans des flacons SCHOTT® de 500 mL à partir de la solution de DMS à 26,8 mg/L. Les solutions ont été préparées avant la dégustation puis elles sont conservées au réfrigérateur pendant 24 h. Les vins ont ensuite été disposés dans une salle à 20°C 1 h 30 avant la dégustation. Un numéro aléatoire à 3 chiffres a été attribué à chaque vin. Il lui servira de code pour la dégustation. Les modalités et les codes attribués sont référencés dans le **Tableau 47**.

Le dosage du DMS libre dans chaque échantillon a été réalisé exactement comme pour la dégustation précédente.

Tableau 47. Modalités étudiées et codes d'identification présentés lors de la dégustation pour l'étude du comportement sensoriel du DMS dans le vin.

Modalités (DMS ajouté en µg/L)	**Codes d'identification merlot**	**Codes d'identification cabernet franc**
5	740	426
10	214	631
20	825	295
40	953	187
80	367	943
160	591	785

2.3.2.2 Déroulement de la dégustation

Pour chacun des vins, trois postes de dégustation identiques étaient à la disposition des membres du panel. Chaque poste présentait les 6 modalités étudiées ainsi qu'un verre témoin noté « T » qui

contennait le vin sans ajout de DMS. Vingt millilitres de vin étaient introduits dans des verres INAO noirs et protégés par un couvercle de boîte de Pétri. Les dégustateurs devaient évaluer les postes 1 (vins de merlot) et 2 (vins de cabernet franc) dans un ordre aléatoire. Il leur était demandé de comparer chacune des modalités au verre témoin (T) et de produire une description libre des vins. D'abord, le témoin était analysé de manière orthonasale puis les vins additionnés de DMS étaient dégustés et comparés en description libre au témoin. Encore une fois, les verres étaient remplis avant le passage de chaque dégustateur. Chaque participant suivait un ordre de dégustation imposé et randomisé. Un extrait de la fiche de dégustation utilisée est présenté en annexe 17.

L'analyse des résultats a été faite par le calcul du pourcentage de dégustateur ayant cité un même descripteur parmi ceux générés librement. Un travail préliminaire de tri est effectué afin de regrouper certains descripteurs en classes sémantiques.

2.3.3 Comportement chimique et sensoriel du DMS dans un vin de syrah observé en fonction des modalités de service

Trois modalités de service utilisées en sommellerie ont été testées dans le but de comprendre s'il existe une influence du service sur l'expression du vin en lien avec le DMS. Un vin 100% syrah produit en Afrique du Sud a été utilisé pour ce test (Syrah on shale, the landscape series, Gahrielskloof 2015). Ce vin a été sélectionné pour son odeur assez « truffée » assimilable à la présence de DMS. Trois bouteilles issues du même lot, ont été préparées selon les modalités présentées ci-après.

- **Bouteille 1 :** vin conservé en carafe d'aération (Luminarc, Versailles, 1,5 L) 45 min avec agitation (code modalité : 527)
- **Bouteille 2 :** bouteille ouverte 45 min avant la dégustation et vin laissé en bouteille (code modalité : 159)
- **Bouteille 3 :** bouteille ouverte au moment de la dégustation (code modalité : 364)

Le panel a été sélectionné au préalable pour son aptitude à déguster des vins et à décrire librement leur perception. Treize dégustateurs dont 7 femmes et 6 hommes, avec un moyenne d'âge de 32 ans ont participé à l'exercice. L'ensemble du panel était convoqué en même temps et un poste était destiné à chacun. Trois verres noirs codés étaient disposés sur les postes et étaient préalablement remplis avec 20 mL de chaque modalité puis fermés par un couvercle de boîte de Pétri. Aucune indication n'était donnée au préalable sur le contenu des verres ni sur l'objectif de l'essai. Il était demandé aux panelistes de déguster les vins dans l'ordre indiqué sur leur feuille et de décrire librement, avec le plus de précision possible, les composantes aromatiques perçues (les principaux descripteurs et leurs intensités). Pour cela, les dégustateurs devaient réaliser une évaluation orthonasale seulement. Il était fortement demandé

de comparer les échantillons entre eux. L'ordre de dégustation était randomisé. La fiche de dégustation utilisée pour cet essai est présentée en annexe 18.

Les termes générés ont été regroupés par champs sémantiques et le nombre de citation est comptabilisé. Un nuage de mots par intensité de citation est effectué grâce au logiciel XLSTAT 2019 (Addinsoft, Paris, France). En parallèle et à l'instant de la dégustation, le DMS « libre » a été quantifié par SHS-GC-FPD en analyse unique, le DMS « total » et le pDMS par SPME-GC-MS en duplicats.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Effet des composés phénoliques sur les teneurs en DMS libre

3.1.1 Évolution du DMS libre en présence de tanins

Un premier essai a été réalisé en solution modèle « vin » afin de travailler sur l'hypothèse selon laquelle il existerait une forme de DMS liée dans les vins. Cette forme liée serait très probablement issue d'interactions entre les polyphénols du vin et le DMS (**Figure 70**). Dans un premier temps, nous avons souhaité travailler en solution modèle « vin ». La matrice du vin étant riche de composés qui pourraient combiner le DMS, nous souhaitons travailler pas à pas afin d'observer quels composés de la famille des polyphénols pourraient interagir avec le DMS. L'essai a débuté avec l'utilisation de fractions de tanins de DPm variables (monomères, oligomères en présence de quelques polymères de tanins). Il s'agit d'un essai de preuve de concept. L'utilisation de fractions purifiées et bien caractérisées aurait nécessité un long travail de purification préliminaire. Il n'aurait pas été judicieux de le réaliser sans avoir vérifié au préalable que ces composés interagissent bien avec le DMS.

Le plan expérimental suivi est celui représenté sur la **Figure 72**. Trois fractions de tanins notées T1, T2 et T3 ont été mélangées à une solution modèle de vin aux concentrations de 2 g/L et 4 g/L (concentrations cohérentes avec celles du vin). À ces solutions, du DMS a été ajouté à une concentration d'environ 100 µg/L. Un suivi cinétique des teneurs en DMS a été réalisé pendant 15 jours. Les concentrations en DMS ont été déterminées à partir de l'équation de la courbe de calibration réalisée dans une matrice hydroalcoolique. Les résultats concernant ce suivi dans les 3 modalités de tanins aux deux concentrations étudiées sont représentés sur la **Figure 76**.

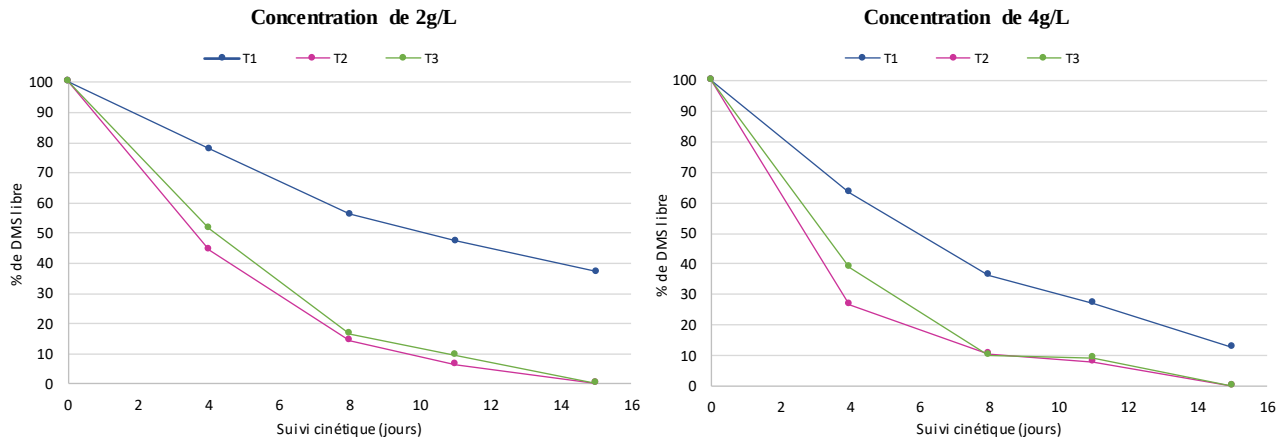


Figure 76. Évolution du % de DMS libre sur 15 jours de garde dans des solutions modèles de vins supplémentés avec des modalités de tanins (T1, T2 et T3) à deux concentrations différentes (2 g/L et 4 g/L).

Les concentrations de DMS libre quantifiées ont été exprimées en % de DMS libre afin de comparer les suivis cinétiques de chaque modalité. Les résultats montrent que dans les échantillons des trois modalités de tanins, on observe une diminution de la concentration en DMS libre. Au bout de 15 jours, il ne reste plus de DMS libre dans les échantillons puisque le % de DMS libre atteint une valeur de 0 pour les tanins T2 et T3. Cette chute n'est pas liée à une volatilisation ou un autre phénomène de perte du composé puisque, dans le témoin, les teneurs en DMS libre restent stables (non représenté ici). Pour les modalités T2 et T3 qui correspondent aux tanins oligomères/polymères, la diminution du DMS est deux fois plus rapide que pour la modalité T1 correspondant aux tanins monomères/dimères. Au bout de 15 jours, il reste 40% de DMS libre dans les échantillons de la modalité T1. L'effet de la concentration est aussi observé puisque à 4 g/L, la diminution du DMS est plus marqué pour les trois modalités. Pour T2 et T3, l'effet est surtout prononcé dans les 4 premiers jours. Ensuite, la diminution du DMS se fait de la même manière pour les deux concentrations. Pour T1, les 20% de DMS d'écart entre les deux concentrations se retrouve tout le long de la cinétique.

Au vu de ces premiers résultats, nous avons souhaité reproduire une modalité en triplicats biologiques afin de confirmer cette tendance à la diminution du DMS libre. La modalité T3, disponible en plus grande quantité au laboratoire, a été choisie. Le plan expérimental suivi est celui présenté sur la **Figure 73**. Pour des raisons pratiques, les jours d'injection du DMS varient par rapport au premier essai mais le suivi est toujours réalisé sur 15 jours. Les résultats obtenus pour ce deuxième essai sont présentés sur la **Figure 77**. Encore une fois, on remarque que le pourcentage de DMS dans la modalité témoin reste stable sur les 15 jours. Ensuite, pour les deux modalités avec tanins, le % de DMS libre diminue au fil du temps. L'effet de concentration est lui aussi reproduit. Si l'on compare ces résultats à ceux de la **Figure 76** pour les même tanins (T3), on remarque qu'après 8 jours, par exemple, on obtient le même % de DMS libre restant (soit environ 20% pour 2 g/L et 10% pour 4 g/L). Ensuite, la perte en DMS se

fait dans les 4 premiers jours. Le point à 2 jours réalisé dans le deuxième essai permet de tracer correctement cette diminution. Nous confirmons alors, grâce à ce deuxième essai reproduit en triplicats, que le DMS libre subit une diminution au fil du temps lorsqu'il est en présence de tanins.

Ces premiers résultats montrent un effet d'interaction entre les molécules de tanins et le DMS. Cet effet est accentué en fonction des types de tanins et de leurs concentrations. Dans le vin, il existerait probablement une forme liée du DMS avec les molécules de tanins. Cette observation pourrait également souligner le rôle clé de la concentration en tanins des vins, de la structure colloïdale et des modalités de vinifications. En effet, les conditions d'extraction en milieu fermentaire impactent directement la concentration en tanins du vin. S'il est confirmé que ces espèces ont des propriétés d'interaction avec les composés volatils et notamment avec le DMS, alors l'impact sensoriel peut être considérable. Il est aussi possible que le moment de l'extraction des composés phénoliques (pré ou post-fermentaire) impacte cette immobilisation du DMS.

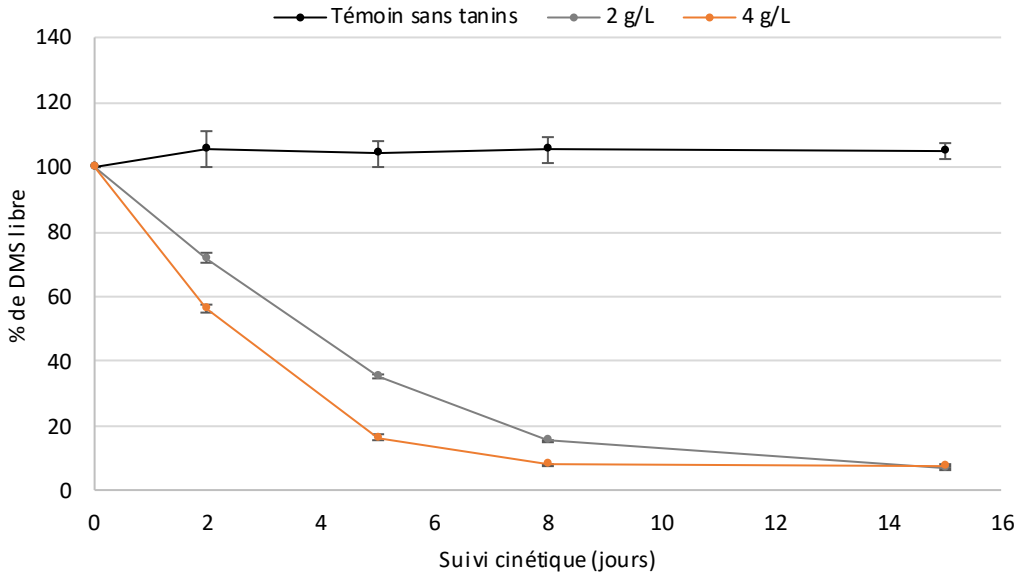


Figure 77. Évolution du % du DMS libre sur 15 jours dans une solution modèle de vin supplémentée avec 2 g/L et 4 g/L de la modalité de tanins T3. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats biologiques.

3.1.2 Étude du mode de sorption du DMS sur les tanins

Une fois la preuve de concept réalisée, la connaissance des mécanismes d'interaction entre les deux entités chimiques peut s'avérer intéressante. Étant donné la structure du DMS de type dipolaire, on suppose qu'il existe une interaction assimilée à une adsorption chimique, phénomène par lequel le DMS se fixerait sur les tanins par le biais de liaisons faibles électrostatiques de type Van der Walls. Les caractéristiques de liaisons sont généralement déterminées par l'analyse de saturation à l'équilibre.

L'approche théorique des systèmes d'adsorption est l'étude de l'isotherme pour laquelle la quantité adsorbée est tracée en fonction de la concentration mesurée dans la phase solide à température constante et pression constante. Ensuite, ces isothermes sont classifiées grâce à des transformées mathématiques qu'ils représentent en lien avec les mécanismes d'adsorption. Ils peuvent donc être utilisés pour diagnostiquer la nature de l'adsorption (Rosenthal, 1967; Giles et al., 1974; Giles and Smith, 1974; Martin et al., 1994). La stratégie suivie est l'étude d'isothermes d'adsorption et de la comparaison avec des modèles d'adsorption types proposés dans les études théoriques.
L'essai de caractérisation du type de sorption a donc été initié en considérant que les tanins constituent le sorbant ou la surface de sorption et que le DMS est le composé sorbé à la surface des tanins. De ce fait, la quantité de ces derniers est fixée dans le milieu et la quantité de DMS varie dans les échantillons. Le protocole mis en place est celui présenté sur la **Figure 74**. Deux concentrations (haute et basse) de tanins ont été choisies pour l'étude (1 g/L et 4 g/L) car nous avons remarqué qu'il existait un effet de concentration sur la diminution du DMS libre. De plus, les concentrations de DMS choisies sont les bornes de la gamme mesurée dans les vins. L'analyse du DMS libre dans les échantillons a été réalisé après 8 jours qui serait un temps suffisant pour l'établissement de l'équilibre car, dans le cadre de l'étude de ces tanins, la quasi-totalité du DMS libre avait disparu après 8 jours (**Figure 76** et **Figure 77**).

Plusieurs modèles de chimisorption sont étudiés à savoir les modèles de Langmuir (le modèle simple ; deux couches ou deux classes de sites), le modèle de Hill, les modèles de coopération positif et négatif et l'interaction de Freundlich. Les résultats sont présentés sur la **Figure 78**.

Dans un premier temps, les isothermes d'adsorption ont été tracés pour les modalités avec 1 g/L (**Figure 78**a) et 4 g/L (**Figure 78**b) de tanins disponibles. Il s'agissait de confronter les teneurs en DMS lié en fonction du DMS libre. La teneur en DMS lié était calculée en appliquant la formule suivante :

DMS lié (µg/masse de tanins) = DMS total ajouté – DMS libre

Le DMS libre est la variable quantifiée par SHS-GC-FPD. Il s'agit du DMS qui se trouve dans l'espace de tête à 8 jours de conservation des solutions. Le DMS total ajouté est celui qui a été introduit dans les flacons au moment de la préparation des échantillons à t = 0 (0 à 200 µg/L).
On remarque que pour les deux concentrations, les isothermes suivent un modèle de polynôme d'ordre 2 avec des coefficients de régression de minimum 0,995. Les coefficients des deux isothermes diffèrent, ce qui impliquerait que les deux modalités de concentration n'adopteraient probablement pas le même mode de sorption. Tous les modèles de Langmuir pourraient être adoptés pour le 1 g/L ainsi que le modèle coopératif positif. Au contraire, le modèle de coopération négative ou modèle de Hill pourrait être suivi par le milieu à 4 g/L de tanins.
Pour s'en assurer, des transformées doivent être tracées afin d'éliminer les modèles de chimisorption non adaptés. La transformée de Lineweaver & Burk a d'abord été réalisée. Pour les deux modalités, les

isothermes suivent encore un modèle de polynôme d'ordre 2 avec un coefficient de régression de 0,99 respectivement. À ce moment-là, tous les modèles de Langmuir qui présentent des transformées de Lineweaver & Burk linéaires sont exclues. Encore une fois, la pente de cette transformée est négative pour 1 g/L et positive pour 4 g/L.

À la suite de cela, la transformée de Scatchard a été tracée. Encore une fois, les isothermes ne sont pas linéaires. De plus, le sens des modèles de régression polynomiale d'ordre 2 ont des pentes différentes, ce qui confirme également que les deux modalités suivent des modèles de chimisorption différents. Cette transformée de Scatchard permet de confirmer les modèles de sorption. Donc, pour la concentration de 1 g/L, l'isotherme de départ et les transformées de Lineweaver & Burk et Scatchard ressemblent aux isothermes théoriques du modèle de la coopération négative, tandis qu'à 4 g/L elles ressemblent à celles du modèle de la coopération positive.

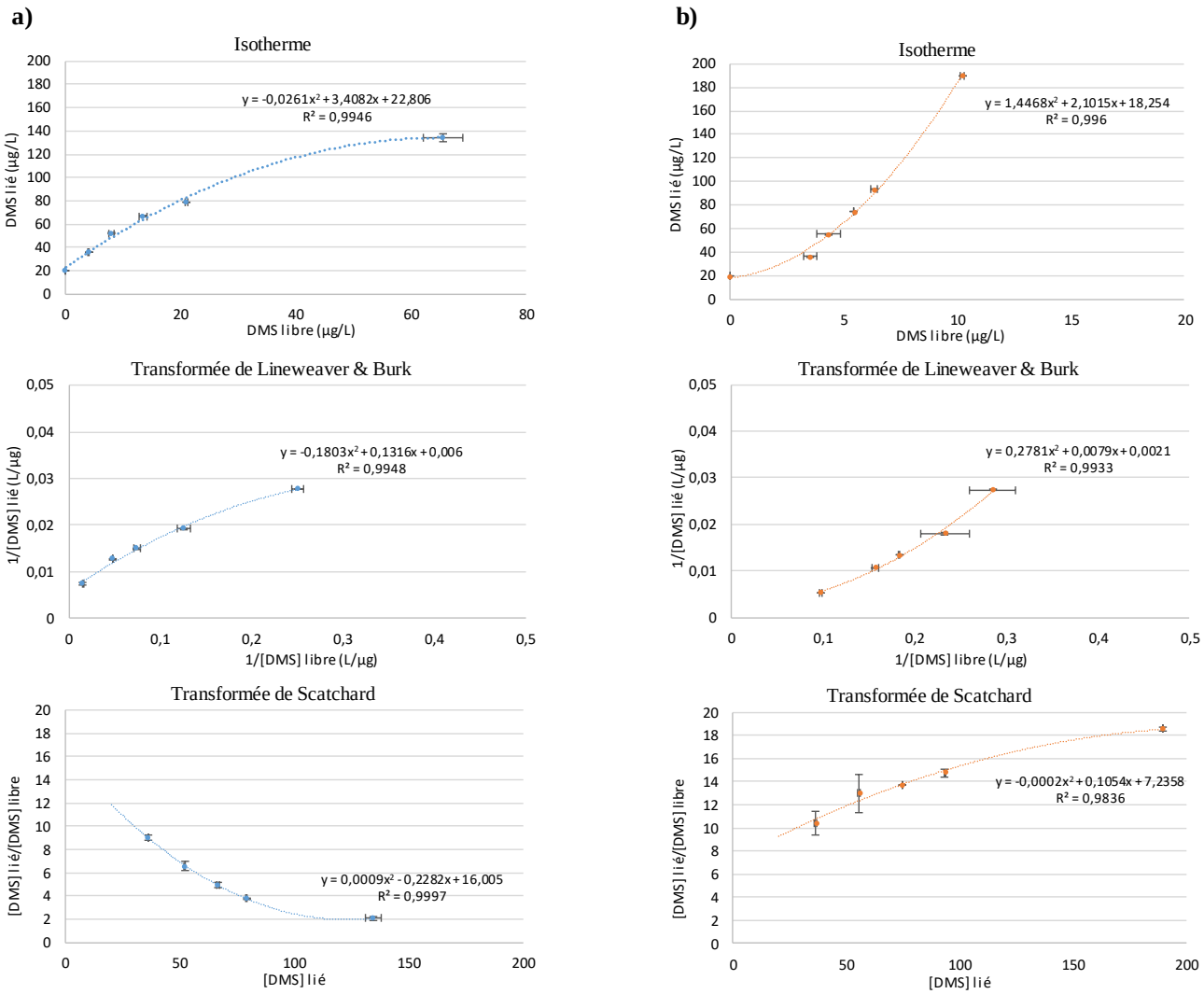


Figure 78. Isothermes d'adsorption et transformées de Lineweaver & Burk et de Scatchard correspondants à la sorption du DMS sur les tanins étudiés aux concentrations de **(a)** 1 g/L et **(b)** 4 g/L. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats expérimentaux.

En résumé, le modèle de sorption du DMS avec les tanins de pépins de type B a été mis en évidence. Deux modèles différents sont adoptés. Les modèles sont de type coopératifs, c'est-à-dire qu'une fois qu'une molécule sorbée (ici le DMS) se fixe sur un site de la couche de sorbant (ici les tanins), cela active (dans le cas de la coopération positive) ou désactive (dans le cas de la coopération négative) d'autres sites de sorption. Lorsque la quantité de tanins disponible est faible (1 g/L), le modèle est plutôt de coopération négatif, donc cela signifie que les molécules de DMS interagiront moins facilement avec les tanins. Il est vrai que d'une part, la concentration disponible est faible mais d'autre part, avec ce modèle de chimisorption, les sites actifs du sorbant se désactivent dès qu'une molécule de DMS s'adsorbe. Dans ce cas-là, le DMS sera plus largement libre que lié. À l'inverse, dans le cas où la quantité de tanins disponible est élevée (4 g/L), le modèle est plutôt de coopération positif. Les autres sites de sorption des tanins s'activent dès qu'une molécule de DMS s'adsorbe, permet de supposer que ce dernier aura tendance à lier plus facilement aux tanins. L'effet de concentration peut aussi jouer un rôle dans la structure colloïdale. Il se peut la différence du mode de sorption pour 1 g/L et 4 g/L de tanins soit le résultat d'une modification de la structure colloïdale.
Cette mise en lumière du type de sorption confirme bien qu'il y a une interaction entre le DMS et les tanins étudiés. Il serait intéressant de réaliser une étude mécanistique afin d'observer à quelle concentration de tanins, le modèle de coopération change. D'autre part, une réflexion sur la structure colloïdale doit être gardée à l'esprit. Cet essai pourrait également être reproduit avec les autres fractions de tanins et notamment T1, qui est constitué d'une plus grande quantité d'unités monomères de tanins, afin de voir si le modèle de sorption est identique.

3.1.3 Application au vin

Étant donné qu'en solution modèle de vin, la sorption existe entre les tanins et le DMS, nous avons souhaité mettre en application dans la matrice vin rouge. La matrice vin blanc est assimilée à un témoin pauvre en tanins et sert de comparaison dans l'essai. Deux vins rouges de deux millésimes ont été étudiés afin de comparer deux vins de compositions différentes. Les tanins des fractions étaient issus du raisin, donc deux vins rouges, qui n'ont pas été en contact avec le bois, ont été sélectionnés. De ce fait, seuls les tanins présents dans ces vins sont issus du raisin. Le même protocole qu'en solution modèle a été suivi, c'est-à-dire que du DMS à hauteur de 100 µg/L a été introduit dans les échantillons et le suivi cinétique grâce au dosage du DMS libre dans l'espace de tête s'est effectué à 0, 2, 5, 8, 12, 15 et 30 jours. Ce dernier point a été rajouté afin d'observer le comportement du DMS sur une longue période. Ces 30 jours pourraient correspondre à une période transitoire entre la fin de la fermentation alcoolique et le début de l'élevage du vin. Les résultats sont présentés sur la **Figure 79**.

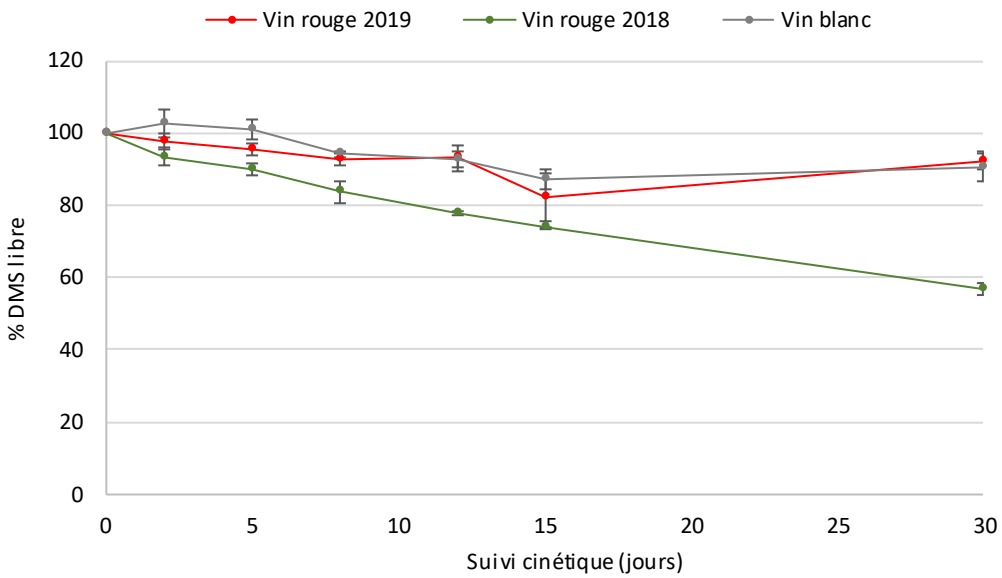


Figure 79. Évolution du % de DMS libre sur 15 jours de garde dans deux vins rouges de 2018 et 2019 et dans un vin blanc. Les barres d'erreur correspondent aux écarts-types des triplicats expérimentaux.

À la différence de la solution modèle, le % de DMS libre ne diminue pas sur la période de 15 jours pour le vin rouge de 2019 et le vin blanc. En ce qui concerne le vin blanc, l'absence de tanins peut expliquer cette tendance. D'autre part, la constance du % en DMS libre dans ces échantillons démontre qu'il ne se passe pas un phénomène de volatilisation du DMS ou bien de disparition de celui-ci par réaction chimique dans le milieu. En revanche, les résultats dans le vin rouge de 2019 sont surprenants puisque nous nous attendions à observer une diminution du % du DMS au moins au-delà de 80%. Le point à 30 jours confirme également que le DMS n'a pas interagi avec les polyphénols du vin. A l'inverse, le vin rouge de 2018 montre une tendance à la diminution du % du DMS libre sur les 15 premiers jours et cette diminution perdure jusqu'à 30 jours. Finalement, environ 60% de DMS libre est mesuré dans l'espace de tête. Il semblerait alors qu'environ 40% de DMS ait été adsorbé par la matrice tannique.

Le partage des molécules volatiles entre les phases liquides et gazeuse est principalement régi par la volatilité et la solubilité des composés aromatiques. Les propriétés physico-chimiques de ces molécules sont influencées par de nombreux constituants de la matrice vin. Les polyphénols, les protéines, les polysaccharides sont capables d'intervenir dans des interactions avec les molécules volatiles et peuvent affecter leur volatilité et ainsi leur perception dans l'espace sensoriel du verre de vin (Dufour and Bayonove, 1999b; Jung and Ebeler, 2003; Sáenz-Navajas et al., 2010, 2012; Villamor and Ross, 2013). L'implication des composés phénoliques dans des phénomènes d'interactions avec les composés volatils ont été étudiés lors de précédents travaux. La plupart étaient axés sur le changement de la perception aromatique des vins grâce à l'action des polyphénols. Certains auteurs démontrent qu'il existe une diminution du caractère « fruité », « floral », « citron », « fraise », « fruits cuits » dans des vins avec de

fortes concentrations en polyphénols par rapport à des vins pauvres en polyphénols (Goldner et al., 2011). Cette action peut être causée par la diminution de la perception odorante de certaines molécules. Par exemple, il est décrit que la perception par exemple de la 2-méthylpyrazine, du benzoate d'éthyle, de l'IBMP, du 3-mercaptohexanol, du décanoate d'éthyle diminuent en présence d'acide gallique, d'acide caféique, de quercétine et de naringine (Aronson and Ebeler, 2004; Lund et al., 2009). Plus tard, Lorrain et al. (2013) montraient que la catéchine impacte significativement le seuil de détection olfactif de nombreux esters tandis que l'acide gallique n'aurait aucun effet. Ces travaux précisent que les polyphénols auraient des effets variables sur les composés volatils et sur leur perception sensorielle.

D'un point de vue chimique, quelques études ont montré que la volatilité de certains arômes (aldéhydes, esters, pyrazines) était diminuée en présence de catéchine ou d'acide gallique (Aronson and Ebeler, 2004; Jung and Ebeler, 2003). Cependant, peu de travaux décrivaient les potentiels liens entre les polyphénols et les arômes. Dufour et Bayonove ont montré qu'il existait des interactions, par le biais de réactions hydrophobes, entre composés volatils et polyphénols en solution hydroalcoolique, sans pour autant réellement étudier le type d'interactions (Dufour and Bayonove, 1999a). Plus particulièrement, l'action de la catéchine et l'épicatéchine, unités monomères de tanins, est propice aux interactions avec les molécules volatiles telles que l'acétate d'isoamyle, l'hexanoate d'éthyle et le benzaldéhyde. De plus, des analyses RMN ont confirmé que l'interaction arôme-polyphénols était due à la présence d'une liaison π-π entre le cycle galloyle et le cycle aromatique des composés odorants avec une stabilité fournie par la liaison hydrogène. La structure chimique des deux entités influencerait la force de l'interaction (Jung et al., 2000). D'autre part, des travaux ont été menés sur la réactivité des thiols volatils (composés soufrés) avec les polyphénols et notamment la catéchine et l'épicatéchine. Ces deux monomères sont capables de réagir avec ces molécules volatiles de manière plus ou moins réactive. L'épicatéchine est plus réactive que la catéchine en milieu acide et dans des conditions oxydatives. Des différences de réactivités au sein des différents thiols sont également montrés (Nikolantonaki et al., 2010). L'étude mécanistique de cette réactivité en présence de polyphénols oxydés a été menée et les résultats ont montré la formation d'adduits entre thiols et polyphénols qui conduisent à la perte odorante de ces composés pendant la fermentation et le vieillissement du vin blanc (Nikolantonaki et al., 2012).

Toutes ces études montrent un intérêt envers les interactions entre les polyphénols et les arômes. Nous avons apporté une information supplémentaire à l'ensemble de ces travaux en montrant, qu'en solution modèle, il existe un lien entre les tanins provenant du raisin et le DMS. Cependant, nous n'avons eu recours qu'à des fractions de tanins non purifiées. Il sera intéressant de reproduire cet essai en présence seulement de catéchine et d'épicatéchine étant donné que leur action d'interaction envers les arômes a été longuement étudiée. Maintenant que nous avons acquis la certitude de l'intérêt de la connaissance des interactions DMS/tanins, une étude plus fine des interactions entre le DMS et les tanins, en connaissance des structures de ces molécules, pourrait aider à modéliser les mécanismes de sorption et de comprendre les influences de paramètres tels que les concentrations et le pH sur l'immobilisation des

arômes. L'étude des autres composés de la famille des polyphénols tels que les anthocyanes ou les tanins du bois de chêne pourrait également constituer un complément intéressant. Il s'agirait d'observer comment le DMS se comporte en présence de ces espèces. Cela pourrait éclairer les connaissances sur son évolution au cours de la période de garde.

Ensuite, les résultats obtenus dans le vin divergeaient. La composition phénolique des vins dépend des cépages et des pratiques de vinification. Le moment de l'extraction pourrait aussi avoir une importance. D'autant plus que des recherches ont montré que 9 à 23% des tanins du raisin sont extraits dans le vin avec une extraction plus rapide des tanins de la pellicule par rapport aux tanins du pépin (Fournand et al., 2006; Koyama et al., 2007; Kennedy, 2008). Donc il est probable que les espèces de tanins, présentes dans le vin de 2019, n'étaient pas capables d'interagir avec le DMS tandis que d'autres espèces dans le vin du millésime précédant le seraient. D'autre part, le modèle de coopération négative mis en évidence, en solution modèle prouve, que pour une faible quantité de la fraction de tanins étudié (1 g/L), un mécanisme de désactivation des autres sites d'adsorption interviendrait. Si une faible quantité d'espèces similaires à la fraction se retrouvent dans le vin, ce mécanisme pourrait se produire. D'autre part, dans le vin, il existe également les anthocyanes, les pigments polymérisés ou d'autres composantes qui pourraient intervenir dans la structure colloïdale du vin et modifier la disposition des tanins et affecter leur capacité d'interaction. Une caractérisation plus fine des espèces de tanins capables de combiner doit être effectuée avant de conclure sur les effets envers le DMS. Un recours à la modélisation chimique *in silico* pourrait aussi être envisagé.

Un point est confirmé, il existerait en plus de sa forme libre, une forme liée du DMS avec la matrice non volatile. Cette forme n'est pas totalement caractérisée à ce jour mais peut se révéler être à l'origine du polymorphisme du DMS au cours de la dégustation.

3.2 Effets olfactifs du DMS

3.2.1 Comportement sensoriel du DMS dans l'eau

L'expression aromatique du DMS a d'abord été évaluée dans l'eau. Ce composé a fait l'objet de nombreuses études sensorielles conduites en milieu vin pour la quasi-totalité d'entre-elles. Or, nous venons de montrer que des composés de la matrice interagissent avec le DMS, cela peut impacter sa volatilité et donc son image sensorielle. Aussi, nous proposons comme point de départ à l'étude du comportement sensoriel du DMS, une étude dans l'eau. Différentes concentrations de DMS ont été présentées à un panel de dégustateurs préalablement entraînés. Elles correspondent aux teneurs dosées dans les vins (de 5 à 160 µg/L). Les participants devaient choisir le/les descripteurs du DMS le/les plus

adapté(s) sur des photographies imposées après avoir sentis des référentiels, une première fois, lors de la séquence d'entraînement. Neuf descripteurs aromatiques ont été choisis en fonction des termes les plus couramment utilisés dans la littérature. D'un côté, quatre composantes aromatiques considérées comme positives ont été sélectionnées. Il s'agissait des termes « truffe », « sous-bois », « cassis » et « fruits rouges » (de Mora et al., 1987; Anocibar Beloqui, 1998; Segurel et al., 2004; Ugliano et al., 2010; San-Juan et al., 2011; Lytra et al., 2016). De l'autre côté, cinq composantes aromatiques « négatives » ont été retenues. Il s'agissait des termes « olives noires et vertes », « foin », « surimi », « asperge » et « chou » (Marais, 1979; Goto and Takamuro, 1987; Segurel et al., 2004; Dagan, 2006; Escudero et al., 2007). Un dixième descripteur a été proposé, en cas d'absence de perception orthonasale. Il s'agit du terme « aucune perception ». En parallèle, le DMS quantifié dans chaque modalité présentée permettait de vérifier exactement la concentration d'étude.

Le calcul des fréquences d'occurrence des descripteurs (FO) a été effectué. La **Figure 80** présente les résultats des fréquences d'occurrence des modalités. Pour chacune des concentrations de DMS présentées, les deux descripteurs les plus cités par le panel sont représentés par leur image et par le pourcentage de dégustateurs ayant cités ce descripteur.

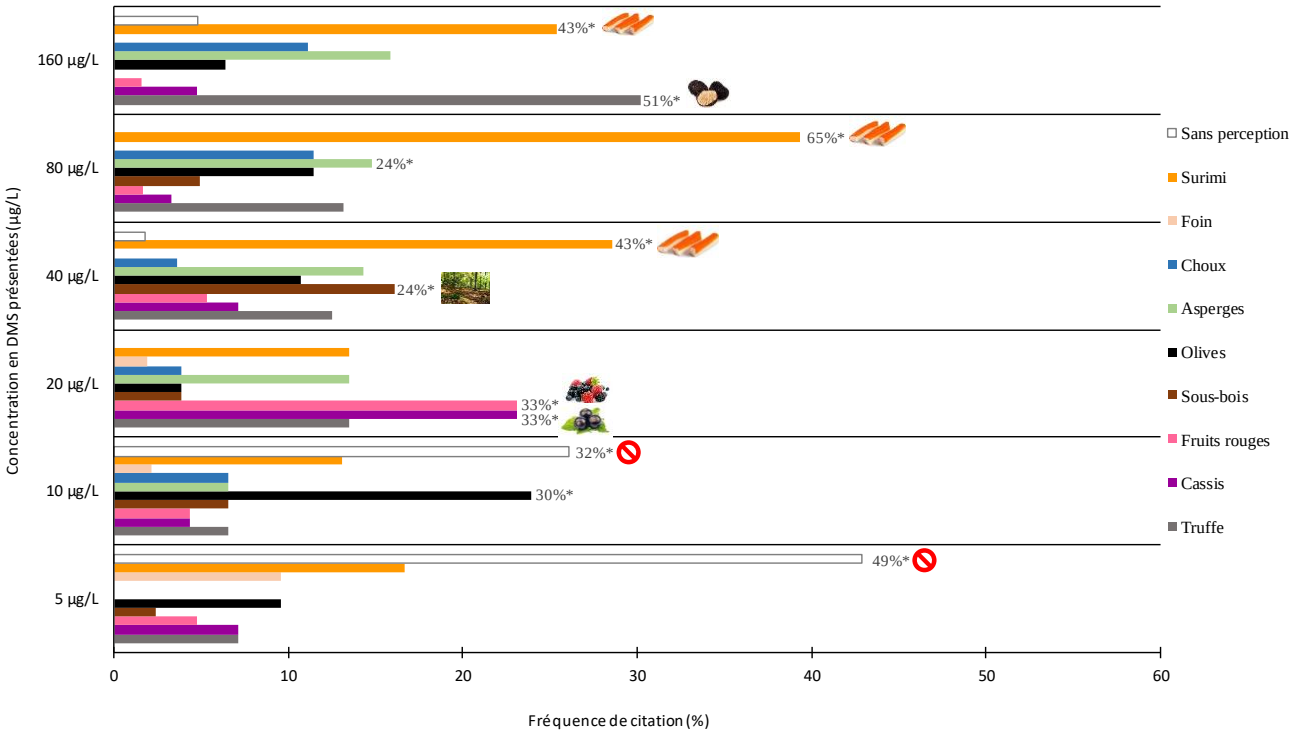


Figure 80. Fréquence de citation des 10 descripteurs aromatiques du DMS pour chaque concentration dégustée. Le pourcentage suivi de * correspond au pourcentage de dégustateurs ayant cités les descripteurs les plus représentés pour chaque modalité.

Les résultats importants sont les suivants.

- **Modalités 5 µg/L et 10 µg/L**

Le DMS quantifié dans ces modalités est réellement de 4,2 et 7,5 µg/L respectivement. Pour ces deux modalités, 42 et 46 citations ont été générées par les 38 dégustateurs. Il en ressort que 49% (5 µg/L) et 32% (10 µg/L) des dégustateurs citent « aucune odeur » (soit des fréquences de citations de 42% et 26% respectivement pour le terme « aucune perception », **Figure 80**). Nous pouvons noter que pour les participants qui perçoivent une odeur pour ces deux concentrations, les descripteurs sont assez partagés et aucun n'est vraiment saillant. Seul le terme « olives » ressort avec une fréquence de citation de 24% pour la modalité à 10 µg/L. À faible concentration dans la matrice eau, la description du DMS semble peu consensuelle, probablement en raison des différences de perception entre les dégustateurs et parce que les concentrations se situeraient à proximité du seuil de perception du DMS.

- **Modalité 20 µg/L**

Le DMS quantifié dans ces modalités est de 19,1 µg/L et 46 citations ont été générés par le panel. Une dimension « cassis » et « fruits rouges » est évoquée par plus de la moitié des dégustateurs (33% pour chacun des deux termes, **Figure 80**). En regroupant ces notions en seul groupe nommé « fruits frais rouges et noirs », il apparaît que 54% de ces dégustateurs citent ce caractère (non montré ici). Le DMS a déjà été associé à une dimension « fruitée » grâce à ses vertus d'exhausteur de cet arôme dans les vins (Anocibar Beloqui, 1998; Segurel et al., 2004) et grâce à sa capacité d'interagir avec les esters pour favoriser l'abaissement de leur seuil de perception (Lytra et al., 2014b). En revanche, à notre connaissance, aucun écrit associe le DMS seul et dilué dans une matrice neutre, à une dimension « fruitée ». Cette analyse doit être reproduite à cette concentration pour valider cette observation. Mais si c'est le cas, ce travail ouvre la voie à l'étude des aspects sensoriels du DMS à faible concentration. Cette teneur pourrait être retrouvée au début de la libération du DMS lorsque le vin entame son processus de vieillissement.

- **Modalités 40 µg/L et 80 µg/L**

Pour ces deux modalités, les concentrations mesurées en DMS libre réelles sont de 35,8 µg/L et 74,2 µg/L. Un total de 52 et 61 descripteurs aromatiques sont cités par les dégustateurs pour ces deux concentrations. Les termes générés sont plus denses et l'on observe que pour ces deux modalités, les notes de « surimi » sont principalement évoquées (43% des dégustateurs pour 40 µg/L et 65 % pour 80 µg/L, **Figure 80**). Il est intéressant de noter qu'un faible écart de concentration (20 à 40 µg/L) aboutit à la transformation des perceptions « fruitées » en une perception « soufrée » moins agréable. De plus, en deuxième position, les termes de « sous-bois » pour 40 µg/L et « asperges » pour 80 µg/L sont cités (24% des dégustateurs ont cités ces deux termes, **Figure 80**). Encore une fois, le terme « asperges » peut

faire référence à des notes « soufrées » et une rémanence de ces notes désagréables existent depuis 40 µg/L. Le terme « sous-bois » quant à lui, est associé au DMS dans la matrice vin rouge âgé présentant un bouquet de vieillissement (Picard, 2015).

❖ **Modalité 160 µg/L**

Le DMS réellement quantifié est de 157,1 µg/L dans cette modalité. Un nombre total de 63 citations a été généré par les 38 dégustateurs. On remarque ici que le descripteur « truffe » est le plus cité par le panel (51% des dégustateurs, **Figure 80**). Ce terme est largement identifié comme l'un des principaux descripteurs du DMS dans les vins, et semble finalement associé à une teneur élevée en DMS. Cependant, 43% des dégustateurs citent également le descripteur « surimi ». Il y a ici un partage évident entre ces deux descripteurs qui révèlent des notes « soufrées » assez marquées.

En conclusion de ce premier essai, pour chacune des concentrations du DMS dégustées, plusieurs descripteurs semblent se démarquer. Il existe à la fois des notes positives de « cassis » et « fruits rouges », associées à des faibles teneurs en DMS (20 µg/L) et des notes plutôt « soufrées » (« asperges », « surimi »), qui apparaissent de manière plus récurrente à des plus fortes teneurs en DMS. Les descripteurs « truffe » et « surimi », bien que très opposés, restent les principaux descripteurs de la molécule de DMS isolée dans une matrice neutre. Ces premières observations induisent une grande plasticité aromatique du DMS et, en conséquence, de nombreuses différences de perception olfactives entre les dégustateurs à l'égard de ce composé.

3.2.2 Comportement sensoriel du DMS dans le vin jeune

Dans un second essai, nous avons évalué le comportement sensoriel du DMS dans deux vins rouges mono-cépages de merlot et de cabernet franc de la région de Bordeaux. Les mêmes concentrations en DMS que l'essai dans l'eau ont été additionnées aux vins.

Les panélistes devaient déguster chaque modalité proposée en comparaison avec le verre témoin (sans ajout de DMS) et générer des descripteurs de manière libre. Ces derniers ont été triés et regroupés par classes aromatiques telles que « fruits rouges et noirs », « fruits confits », « épicé/boisé », « fraîcheur », « végétal », « réduit », « oxydé ». En revanche, les descripteurs qui appartiennent aux descripteurs présentés à la séance d'entraînement de la dégustation précédente, n'ont pas été regroupés par classes aromatiques. Seuls les descripteurs tels que « asperges », « surimi », « chou », « olives » aux odeurs « soufrées » plutôt négatives ont été mis en commun. L'analyse des résultats de la dégustation s'est ensuite basée sur la mesure du pourcentage de dégustateurs ayant cité un même descripteur aromatique parmi la génération de descripteurs libre préalablement triés. Les fréquences de citations inférieurs à 10% ne sont pas présentés. La **Figure 81** présente les résultats obtenus pour chacune des modalités dégustées dans le vin de merlot et la **Figure 82**, les résultats obtenus pour le vin de cabernet franc.

Comme pour l'exercice précédent, les classes aromatiques ou descripteurs ayant été les plus cités sont mis en avant à l'aide d'une image correspondante.

Dans un premier temps, La concentration du DMS dosé dans l'espace de tête des vins était similaire à celui dosé dans l'espace de tête de l'eau (4, 6, 15, 35, 74, 156 µg/L pour les vins de merlot et 4, 6, 16, 38, 78, 155 µg/L pour les vins de cabernet franc). De plus, le nombre total de descripteurs cités pour chaque concentration de DMS variait de 35 à 45. Les odeurs perçues pour chacune des modalités sont générées en comparaison avec les échantillons témoins.

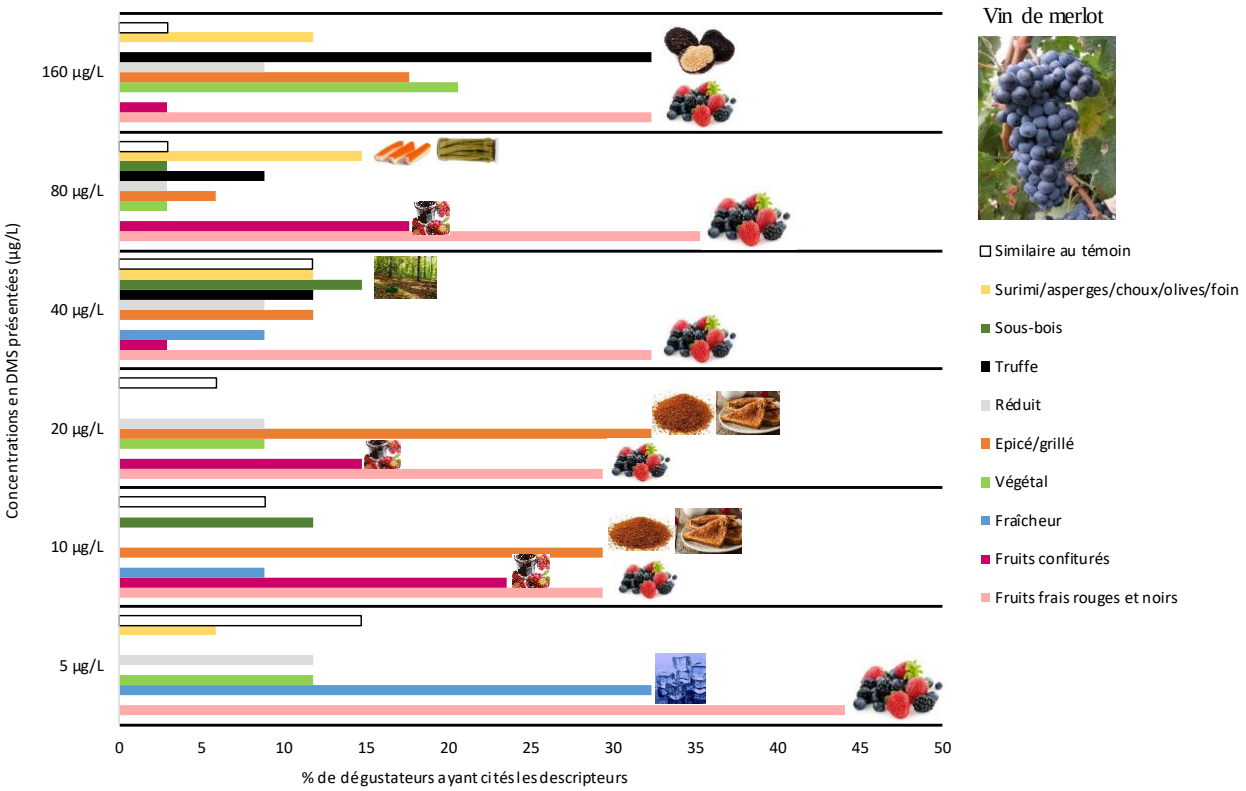


Figure 81. Pourcentage de dégustateurs ayant cité les descripteurs ci-joint dans les vins de merlot avec ajout de DMS et en comparaison avec le témoin sans ajout.

- **Pour le vin de merlot**

Les résultats de la dégustation des vins de merlot sont présentés sur la **Figure 81**. Les images positionnées à côté de certains histogrammes correspondent aux odeurs les plus citées par les dégustateurs pour chacune des modalités. Pour tous les ajouts de DMS réalisés, une augmentation du caractère « fruité » des vins est perçue en comparaison avec le témoin sans ajout, que ce soit par la dimension « fruits frais rouges et noirs » et « fruits cuits ». La capacité du DMS à intensifier le caractère « fruité » est encore confirmé ici. À partir des modalités 40 µg/L, les descripteurs « asperges, surimi,

chou » (par exemple), plutôt associés à des notes soufrées non qualitatives, ainsi que le descripteur « truffe », apparaissent lors de la comparaison au vin sans DMS. Ces résultats sont en corrélation avec ceux observés lors de l'ajout de ce composé à ces concentrations dans l'eau (**Figure 80**).

Il est intéressant de constater qu'à partir de 10 µg/L de DMS ajouté dans ce vin, une amplification du caractère « épicé, grillé, fumé » est cité par de nombreux dégustateurs (25% en moyenne). Bien que des copeaux de chêne frais aient été ajoutés à l'encuvage, ceux-ci n'ont pas subi de chauffe et ont donc un faible impact aromatique direct. Il serait alors possible que le DMS, en plus de ses facultés d'exhausteur de la dimension fruitée des vins, soit aussi exhausteur de la dimension « épicée ». De plus, cette dimension est l'une des caractéristiques sensorielles du bouquet de vieillissement (Picard et al., 2015a). Comme nous avons montré lors de la partie 1, le bouquet de vieillissement était le fruit de possibles interactions perceptives, il serait possible que le DMS (retrouvé dans les vieux vins) participe à la composante aromatique « épicée » du bouquet. Néanmoins, cette observation mérite d'être confirmée grâce à la répétition de cet essai ainsi que par une étude d'analyse sensorielle adaptée pour la mise en évidence d'interactions perceptives.

- **Pour le vin de cabernet franc**

Les résultats concernant la dégustation du vin de cabernet franc sont décrits sur la **Figure 82**. Les images positionnées à côté de certains histogrammes correspondent aux odeurs les plus citées par les dégustateurs pour chacune des modalités. Comme pour le vin de merlot, les modalités avec ajout de DMS sont perçues plus « fruitées » que le témoin sans ajout. Une nouvelle fois, de faible concentrations en DMS (5, 10 et 20 µg/L) renforce le caractère « fruité frais » et le caractère « fruité cuit » apparaît pour des teneurs en DMS plus élevées (40 et 80 µg/L). Ici aussi, les notes « soufrée » et « truffée » apparaissent avec des fortes teneurs en DMS dans ce vin. De plus, deux composantes ont été citées par quelques dégustateurs (Fréquences de citations < 10%) qui n'étaient pas citées pour le vin de merlot. Il s'agissait des composantes « fruits à coque » et « réglisse ». Encore une fois, la dimension « réglisse » est une caractéristique olfactive du bouquet de vieillissement et il serait intéressant de confronter le DMS à cette dimension.
Pour ce vin, il est intéressant de constater que la plupart des dégustateurs perçoivent un caractère « plus mûr » des vins avec ajout de DMS par rapport au témoin. Cette observation présente un intérêt certain puisque le DMS pourrait contribuer à l'amélioration des qualités apparentes d'un vin présentant une sous-maturité. Dans le cas des millésimes difficiles où l'appréciation de la maturité est compliquée, la présence de DMS dans les vins peut s'avérer intéressante. La préservation de son potentiel en amont, prend alors tous son sens. De plus, l'importance de la garde des vins dans la libération du DMS depuis son précurseur est essentiel dans la complexification du profil aromatique initial.

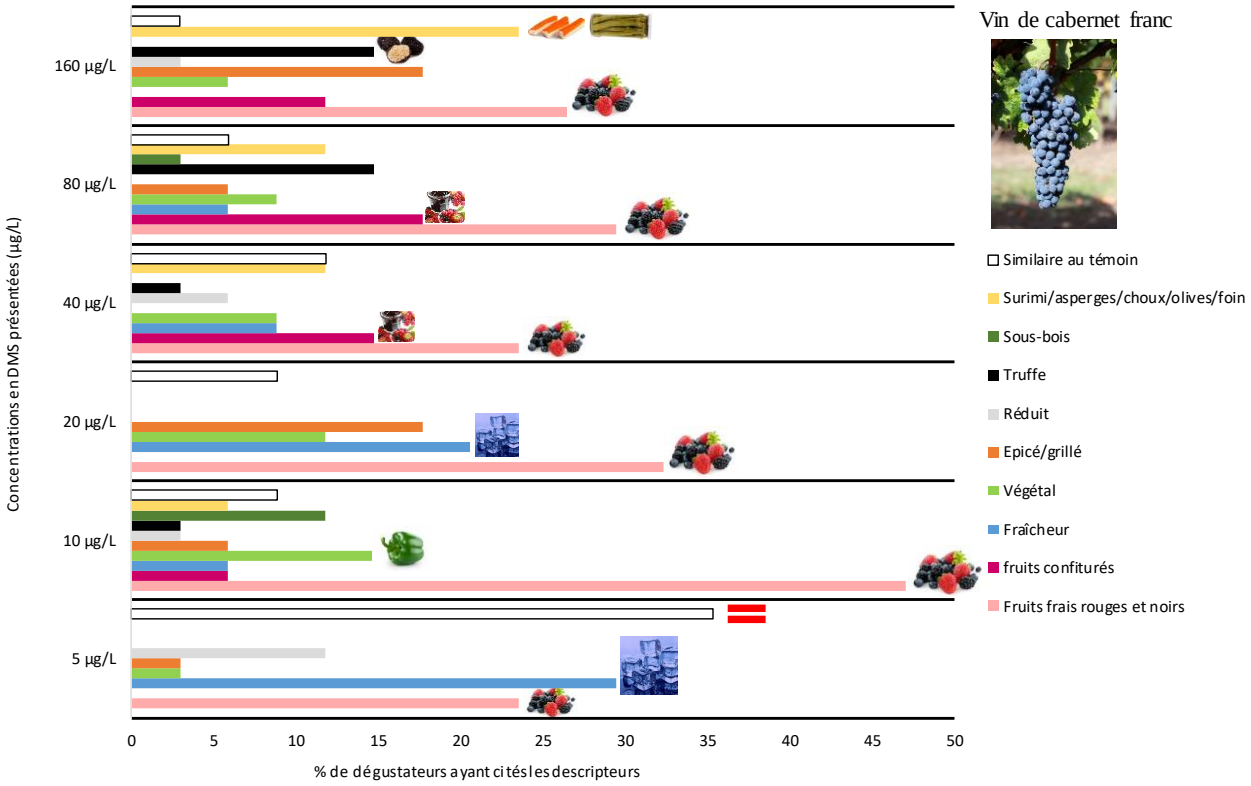


Figure 82. Pourcentage de dégustateurs ayant cités les descripteurs ci-joint dans les vins de cabernet franc avec ajout de DMS et en comparaison avec le témoin sans ajout.

En conclusion des deux premiers essais concernant le profil sensoriel du DMS dans l'eau et dans le vin, les résultats montrent encore une fois que le DMS agit en tant qu'exhausteur du « fruité ». Comme observé dans l'eau et même dans le vin, le DMS serait lié à l'expression de la dimension « fruitée ». Plus les teneurs en DMS augmentent, plus les notes « lourdes » des fruits « confiturés » ou les notes « soufrées » apparaissent. Nous pouvons constater que dans n'importe quelle matrice où le DMS est ajouté, celui-ci est perçu à faible concentration (dès 5 µg/L et 10 µg/L). D'autre part, ses caractéristiques olfactives sont nombreuses et en fonction des matrices, il ne participera pas aux mêmes composantes. Ceci étant, ses capacités à interagir avec d'autres composés du vin, pourrait lui permettre d'être au centre de nombreuses interactions dont nous ne connaissons qu'une partie d'entre-elles.

3.2.3 Mise en évidence d'un comportement chimique et sensoriel du DMS en fonction des modalités de service du vin

Au regard de la mise en évidence d'une forme liée du DMS lors des études de sorption, nous avons imaginé que le polymorphisme du DMS décrit par Lytra et al. (2016) pouvait être lié à la volatilisation

du DMS dans l'espace de tête du verre de dégustation. Ce travail amorcé par Lytra, montrait qu'il existait un lien entre la concentration en DMS et l'espace de tête d'un verre de dégustation. Ce lien était associé à l'évolution du profil aromatique au cours du temps de dégustation (Lytra et al., 2016). Dans le même esprit, l'influence des paramètres de service sur la présence et la perception du DMS méritait d'être abordée. Ces pratiques sont celles fréquemment utilisées en sommellerie. La fragilité des vins vieux offrant un bouquet de vieillissement nous incite à vérifier si ces pratiques sont adaptées pour garantir un instant de dégustation à la hauteur de la magie et du plaisir que peut apporter ce bouquet au dégustateur. La molécule de DMS étant très volatile, l'étude des pratiques de sommellerie sur ce composé peut s'avérer être un bon exemple. L'objectif de cet essai était donc d'observer la dynamique de libération et d'expression olfactive du DMS soumis à différentes modalités d'oxygénation, dans un vin riche en composés phénoliques et en caractère « truffé ». Ce vin a été choisi pour ses caractéristiques sensorielles similaires à celles du DMS. Il constituait donc un bon exemple pour cet essai.

3.2.3.1 Analyses chimiques des trois modalités

Au moment de la dégustation, un prélèvement a été réalisé pour chaque modalité afin de doser le DMS présent dans ces échantillons. Les résultats sont présentés sur la **Figure 83**.

La modalité « carafe » présente une concentration en DMS « total » analysé par SPME-GC-MS de 27 µg/L contre 18 µg/L de DMS « libre » analysé par SHS-GC-FPD soit un équilibre (K) de 0,6 pour une teneur totale de 45 µg/L.
La modalité ouverte et laissée 45 minutes en bouteille, présente une concentration en DMS « total » de 46 µg/L pour 33 µg/L de DMS « libre » soit un équilibre (K) égal à 0,7 pour une teneur totale de 79 µg/L.
La modalité ouverte au moment de la dégustation, présente une concentration en DMS « total » de 58 µg/L pour 44 µg/L de DMS « libre » soit un équilibre (K) égal à 0,8 pour une teneur totale de 102 µg/L.
Pour les trois échantillons, la teneur en pDMS mesurée était d'environ 130 µg/L traduisant une composition en précurseurs du DMS identique dans les trois bouteilles, ce qui nous permet de comparer les échantillons entre eux.

La mise en carafe du vin pendant 40 minutes affecte les teneurs en DMS jusqu'à obtenir une élimination de presque la moitié de celui-ci (103 µg/L à 45 µg/L). Cette diminution est moins marquée lorsque le vin est laissé en bouteille malgré l'ouverture de celle-ci 45 minutes avant la dégustation. Ces résultats coïncident avec la forte volatilisation du DMS et sa disparition lorsqu'il est soumis à une aération trop importante.

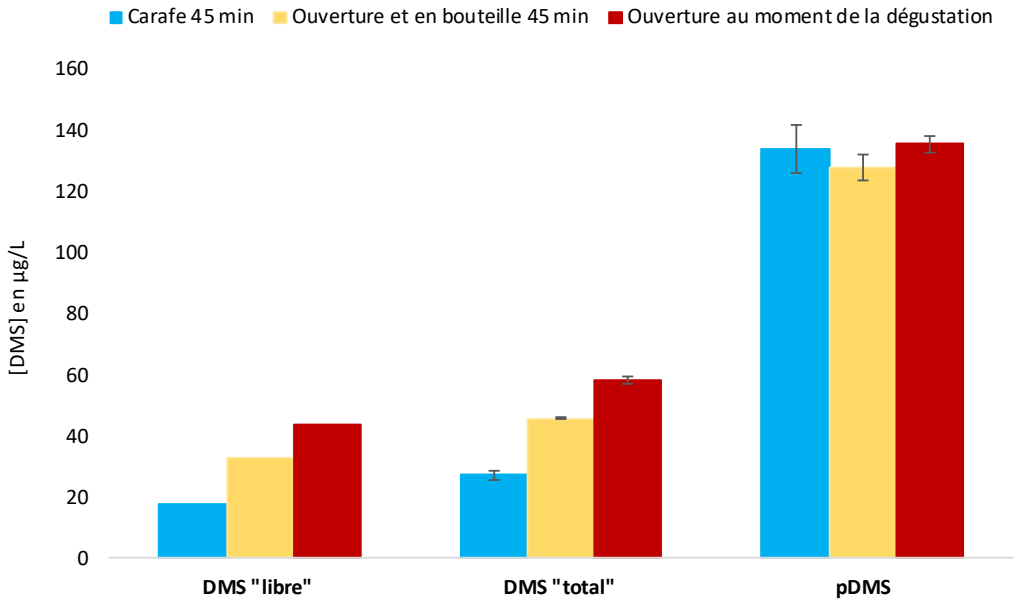


Figure 83. Teneurs en DMS "libre", "total" et pDMS (µg/L) dans les modalités « carafe », ouvert 45 minutes avant et au moment de la dégustation. Les barres d'erreur indiquent les écarts-types des triplicats de dosage.

3.2.3.2 Analyse sensorielle des trois modalités de service

Précédemment lors de la caractérisation du DMS dans l'eau et dans le vin, nous avons vu l'importance de la concentration en DMS ajoutée dans l'expression sensorielle du vin. Ainsi, nous pouvons ici prétendre à ce que les écarts du DMS mesurés entre les trois modalités interviennent dans le jugement des leurs profils aromatiques.

Les 13 dégustateurs, tous présents au même moment ont dû décrire librement les vins. Un total de 42 citations a été générées par le panel pour la modalité ouverte au moment de la dégustation, 31 citations pour la modalité ouverte 45 min avant la dégustation et laissée en bouteille et 35 citations pour la modalité « carafe » avec agitation. Les citations conjointes à un terme spécifique ont été regroupées pour chacune des modalités. Les fréquences de citations des termes communs ont été comptabilisées. Les résultats sont présentés sur la **Figure 84**.

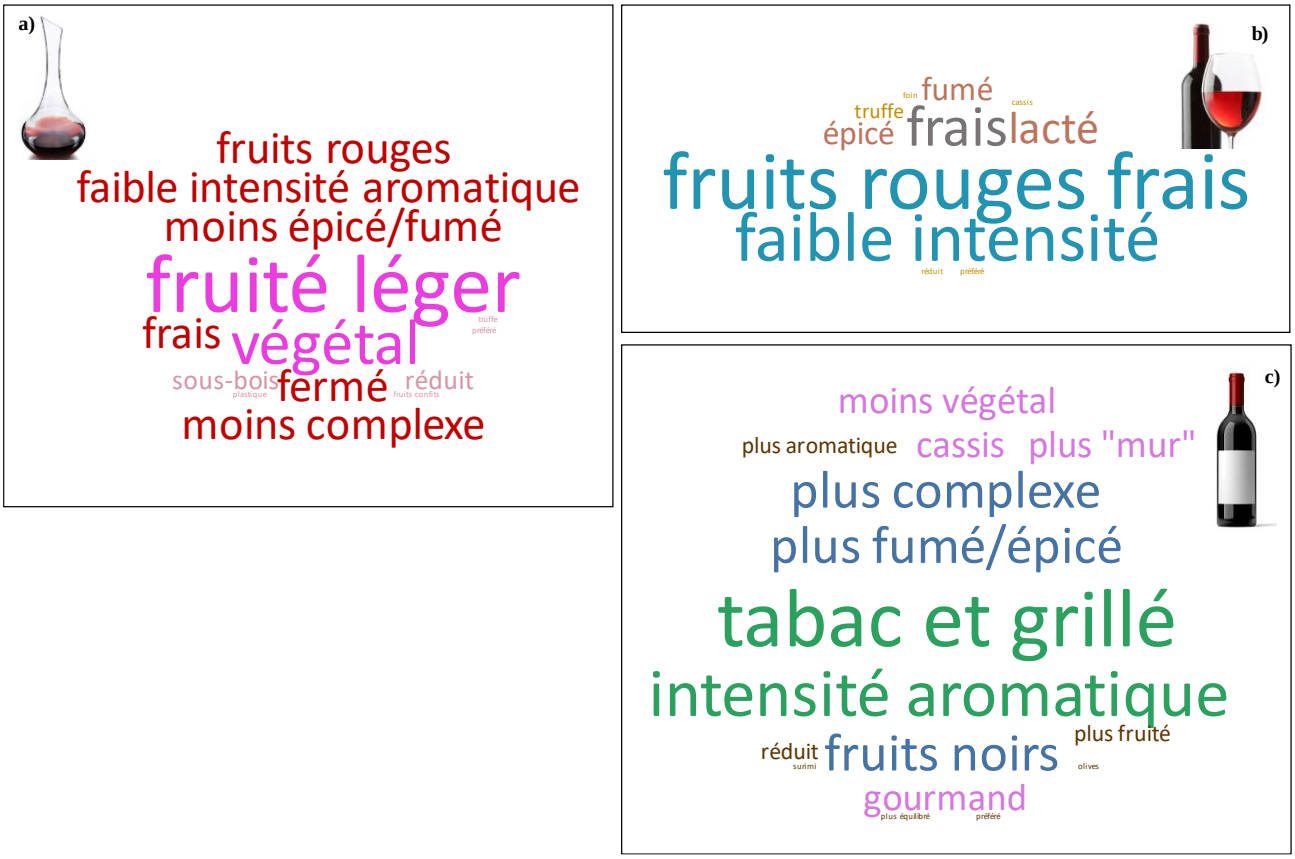


Figure 84. Nuage de mots en fonction de la génération des descripteurs et du nombre de fois où ces mots sont cités pour les modalités **(a)** « carafe », **(b)** ouverte 45 minutes avant la dégustation et **(c)** ouverte au moment de la dégustation.

La modalité carafée est jugée par de nombreux descripteurs comme « fruité léger », « végétal », « fermé », « faible intensité aromatique », « moins complexe ». Ce sont ceux qui ont été les plus cités par le panel. Ces termes font référence à un jugement plutôt « négatif » à l'égard de ce vin. Il s'agissait de la modalité qui comprenait le moins de DMS.

La modalité ouverte 45 minutes avant la dégustation a permis de générer moins de termes mais deux notions ressortent comme les plus largement décrites. Il s'agit des notions « fruits frais » et « faible intensité ». Ici on se situe au centre d'une perception plutôt agréable déterminée par le « fruité » et d'une perception plutôt « négative » associée au terme « faible intensité ». Il s'agissait de la modalité intermédiaire en terme de quantité de DMS dans le vin.

La modalité ouverte au moment de la dégustation a permis de générer de nombreux termes tels que « intensité aromatique », « tabac et grillé », « plus complexe », « plus mur », « gourmand », « moins végétal ». Ces termes font référence à des perceptions olfactives agréables. Certaines notions rejoignent

celles préalablement décrites dans les vins de merlot et cabernet franc (**Figure 81**, **Figure 82**). Il s'agit de la modalité qui comprenait le plus de DMS.

Les résultats de dégustation obtenus pour ces trois modalités mettent bien en avant le rôle du DMS dans la perception olfactive des vins. La modalité « carafe » qui détient le moins de DMS lors de la dégustation est jugée par des termes plutôt négatifs et mettant en avant la diminution du caractère aromatique du vin avec un côté végétal qui ressort. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus précédemment, lors de l'étude de l'ajout du DMS dans les vins de cabernet franc (paragraphe 3.2.2, page 271). Le vin supplémenté en DMS était jugé moins « végétal » par rapport au vin témoin sans ajout. De plus, la modalité ouverte au moment de la dégustation est celle qui contient le plus de DMS et c'est celle qui est jugée « plus qualitative » d'un point de vue aromatique, grâce aux termes précédés de la mention « plus ». D'autre part, le caractère « épicé, grillé, fumé » est en lien avec les résultats précédents obtenus dans le vin de merlot (paragraphe 3.2.2, page 271). Un ajout de DMS semblait favoriser ce caractère aux concentrations intermédiaires ajoutées (10 et 20 µg/L). Ainsi, il apparaît qu'une trop forte oxygénation apportée au vin avant le service, implique un affaiblissement du bouquet en quelques minutes. Cet essai doit être remis dans le contexte de l'étude du DMS et de l'étude du bouquet des vins. La pratique du « carafage » du vin peut s'avérer être nécessaire dans le cas de certains vins réduits ou de vins jeunes. Mais dans notre contexte, cette pratique n'est pas adaptée.

En outre, le vin de syrah choisi pour l'étude était un bon modèle, néanmoins il serait intéressant de reproduire cet essai dans un vin rouge de la région viticole bordelaise afin de voir si ces caractéristiques y sont retrouvées. Un vin rouge pourrait également être supplémenté en DMS et soumis aux pratiques de sommellerie avant la dégustation. La matrice des vins de Bordeaux pourrait constituer une belle interprétation du comportement du DMS dans ces vins et de son évolution tant chimique que sensorielle au cours du vieillissement. Dans tous les cas, la pratique de l'aération en carafe est à proscrire pour des vins vieux dans lesquels le bouquet est recherché.

4. CONCLUSIONS

Ce chapitre évoque les derniers instants de la vie du vin en décrivant les résultats d'études portant sur la révélation du DMS dans la bouteille et dans le verre. Cette molécule semblerait être au centre de nombreuses interactions que ce soit avec des molécules volatiles mais également avec la matrice non volatile du vin. En solution modèle, nous avons montré que le DMS interagit avec les tanins du raisin de type B en quelques jours. La diminution du DMS libre dans l'espace de tête de l'échantillon est montrée. Ainsi, cette observation nous a mené à étudier le mode de sorption entre les tanins de l'essai

et le DMS. Deux modèles de sorption sont mis en évidence en fonction de la concentration des tanins dans le milieu. À faible concentration, le modèle est une coopération négative tandis qu'à forte concentration, il s'agit d'une coopération positive. Il semblerait que plus les tanins sont présents dans le milieu, plus les sites d'adsorption sont actifs pour permettre la liaison du DMS ou bien la structure colloïdale est favorable à l'interaction avec le DMS. Par ces résultats, nous avons conclu qu'une forme de DMS liée serait réellement présente dans le vin. Celle-ci n'est pas totalement caractérisée à ce jour. Des études supplémentaires quant à l'action de la catéchine et de l'épicatéchine sur le DMS pourrait être réalisée. L'étude des tanins du bois de chêne en lien avec le DMS pourrait également être intéressante. Cela pourrait faire référence à la garde des vins et aux mécanismes d'interactions entre matrice et molécules volatiles du bouquet au cours de cette étape.

Enfin, les caractères olfactifs du DMS ont été étudiés dans plusieurs matrices (eau et différents vins rouges). Il en ressort que le DMS fait référence à un jugement qualitatif du vin et participe à sa complexité aromatique. Son action sur l'augmentation du caractère « fruité frais », « fruité mûr » et du caractère « épicé, grillé » a été montré. Sa présence dans les vins contrebalance le caractère « végétal » quelques fois exprimé lors de millésimes difficiles. Enfin, les modalités de service des vins ont montré qu'une attention particulière doit être portée quant à l'oxygénation des vins dès leur ouverture, afin de préserver le DMS et donc la typicité du bouquet de vieillissement. Cette précaution permettra, lors d'une dégustation de vieux vins, de conserver leur bouquet jusque dans le verre. Ainsi, l'amateur pourra profiter des multiples visages qu'offrent les grands vins.

Conclusion générale partie 3

Le sulfure de diméthyle : molécule centrale du vieillissement qualitatif des vins rouges de Bordeaux

****

Au cours de cette partie 3, nous avons étudié le DMS lors des étapes clés de la vie du vin. Le DMS prend naissance dans le raisin sous forme de précurseur. Grâce à l'outil analytique disponible au laboratoire, nous avons pu dans un premier temps, nous intéresser aux paramètres viticoles qui pouvaient influencer les teneurs en pDMS dans les jus. Ensuite, nous avons souhaité porter une attention particulière à l'étape de fermentation alcoolique, afin de voir comment le pDMS était influencé. Celle-ci est importante dans le sens où la quantité de précurseur du DMS présent sur vin jeune va déterminer la quantité de DMS qui se libèrera au vieillissement. Enfin, l'expression du DMS lors de la dégustation nous a paru intéressante à étudier. Bien que cette molécule interagisse avec de nombreux constituants du vin, celle-ci détient à elle seule une multitude de facettes odorantes. Sa présence dans le vin est plus que souhaitable pour permettre au bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux, de s'exprimer. Les principaux résultats obtenus au cours des trois volets ciblés sont présentés sur le **Schéma bilan 3**. L'étude concernant ce composé mérite d'être poursuivie au regard de nouveaux millésimes et de nouveaux essais.

Comment la FA influence le [pDMS] ?

- Perte importante en pDMS lors de la FA en condition de carence azotée et en condition de non carence
- Action causée par les microorganismes. Utilisation du pDMS comme source d'éléments
- Essais de préservation du pDMS non concluants

➢ **FA = tournant du devenir du DMS. Gestion du DMS dans les vins envisagée par la gestion du pDMS à la mise en bouteille**

Quels paramètres viticoles influencent le [pDMS] dans les jus ?

- Teneurs en pDMS dans la baie liées à l'accumulation des sucres indépendamment des terroirs
- Différences de teneurs entre les cépages
- Dégradation du pDMS dans la baie pour le cabernet-sauvignon à l'approche des vendanges = « maturité pDMS » non synchrone avec le compromis de date de vendange pour ce cépage
- Lien relatif avec l'azote assimilable
- Pas de lien observé avec le statut hydrique
- Quelques effets de pratiques viticoles sur les teneurs en pDMS : effet sol mais effet variable en fonction du cépage et du millésime ; pratique de l'effeuillage et de l'échardage pour le merlot implanté dans un cru

➢ **Le terroir doit être considéré dans son entièreté et l'expression du millésime doit être pris en compte. La dynamique du pDMS au cours de la maturation doit systématiquement être suivie pour garantir des teneurs maximales en pDMS dans les raisins**

Comment le DMS s'exprime lors de la dégustation ?

- Interaction avec les tanins de type B en solution modèle observée, existence d'une forme liée du DMS
- Deux modes de sorption entre tanins/DMS mis en évidence. Modèle de « coopération » fonction de la concentration en tanins dans le milieu
- Multiples effets sensoriels du DMS. Sa présence fait référence à un jugement qualitatif et est signe de complexité des vins
- Attention particulière à mener lors du service des vins : préservation du DMS et de la typicité du bouquet lors d'une faible oxygénation apportée à l'ouverture

➢ **Le DMS est au centre d'interactions entre matrice volatile et non volatile. Conséquences importante sur l'expression sensorielle des vins vieux**

Schéma bilan 3. Principaux résultats obtenus au cours de l'étude du DMS depuis le raisin jusqu'au service du vin.

CONCLUSION GÉNÉRALE

La qualité des grands vins rouges est intimement reliée à leur aptitude au vieillissement. C'est au cours de cette période de maturation que les vins vont acquérir une complexité et une harmonie qui signe leur état d'apogée. Ce dernier est perceptible par l'apparition du bouquet de vieillissement. Ce phénomène a longtemps été décrit comme l'un des plus « *fascinants en œnologie mais aussi l'un des plus mal connu* ». La connaissance empirique partagée par les professionnels du vin bordelais a accompagné les recherches sur le sujet. Une première étude a été menée permettant, pour la première fois, de caractériser le concept de bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux, d'un point de vue sémantique, sensoriel et chimique (Picard, 2015). Aujourd'hui, ce bouquet détient sa définition aromatique et l'amateur de vin, déjà capable de le percevoir, est maintenant en mesure de le comprendre. Enfin, l'effet des paramètres œnologiques et des paramètres du terroir a pu être abordé, ce qui a conduit à ouvrir le champ d'investigation vers la compréhension de la genèse du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux. C'est ainsi que les travaux présentés dans ce manuscrit ont été conçus.

La stratégie d'étude employée au cours de cette thèse, concerne à la fois la compréhension de la réalité moléculaire du vieillissement qualitatif des vins de différents crus de Bordeaux et une identification des facteurs viticoles et œnologiques qui influencent la genèse du bouquet. D'autre part, le travail mené sur le DMS a permis de cibler les pratiques et les paramètres qui influencent ses teneurs tout au long de la vie du vin.

Dans un premier temps, une approche sensorielle et chimique a été menée sur 80 vins rouges âgés de 11 à 28 ans et issus de 7 crus de la région bordelaise. Ces vins constituaient de bons modèles de vieillissement et reflétaient bien leur zone de production. Le bouquet de vieillissement a pu être recherché dans chacun des vins. Quatre « verticales » ont pu être sélectionnées et des vins jugés « bons exemples » et « mauvais exemples » de typicité du bouquet de vieillissement ont été identifiés. Dans les vins jugés « bons exemples » du bouquet, les odeurs de « sous-bois » et « truffe » étaient jugées plus intenses. D'autre part, cette étude sensorielle n'a pas permis de montrer l'existence de spécificités aromatiques, au sein de la définition sensorielle générale du bouquet, qui serait propre à chaque terroir du sous-espace bordelais. La composition aromatique de ces vins, d'un point de vue analytique, a ensuite été étudiée. Plus de 80 molécules appartenant à différentes familles aromatiques potentiellement impliquées dans le bouquet ont été ciblées et quantifiées dans les vins. Pour la plupart, leur présence dans les vins était indépendante de l'âge et serait donc le résultat d'une évolution qualitative. Plusieurs molécules ont été retenues pour être impliquées dans la typicité et dans les odeurs du bouquet. C'est probablement grâce à l'action d'interactions perceptives entre elles, que le bouquet de vieillissement apparaît. Néanmoins, la comparaison des « verticales » entre les crus a permis de mettre en évidence une différenciation des rives et des crus grâce aux composés volatils. Les molécules définissant les rives et les crus ont été mises en évidence. La différence retrouvée entre les crus était possible grâce à l'implication des molécules de la famille des terpènes et notamment le terpinèn-1-ol et l'α-terpinène. En

revanche, les terpènes seuls ne permettent pas cette différenciation. Cela souligne le caractère complexe du bouquet de vieillissement puisque, ce dernier serait le résultat de l'association de l'ensemble de ces molécules avec une importance plus ou moins marquée pour certaines d'entre elles. L'hypothèse selon laquelle le terroir serait impliqué dans la genèse bouquet de vieillissement est ainsi confirmée. Cette approche a été indispensable pour pourvoir affirmer l'importance des molécules issues du végétal dans l'expression du bouquet et ainsi poser les bases de l'étude agronomique ultérieure.

Dans un second temps, une approche agronomique et analytique a été menée, confrontant les notes de typicité du bouquet et les teneurs en composés volatils avec les données de statut hydrique des millésimes étudiés. Un statut hydrique limitant favorise la formation de certaines molécules au vieillissement, en plus de favoriser la typicité du bouquet. Cependant, les molécules identifiées comme corrélées au statut hydrique variaient entre les « verticales » étudiées. De plus, l'assemblage participe aussi à la composition des vins vieux puisque la présence de quelques molécules dans les vins d'un cru était liée à la proportion des cépages utilisée dans les assemblages. Ces notions prouvent que le bouquet de vieillissement se construit dès le raisin et doit être préservé tout au long de la vinification, sans pour autant être associé à une démarche unique et universelle. Donc, la stratégie de déterminer les outils qui favorisent le bouquet de vieillissement, une fois le vin évolué, est complexe. Le recours à l'étude des précurseurs des molécules du bouquet est indispensable. Le travail a été abordé pour les composés à odeur « menthée », mais l'identification d'un précurseur commun à tous les dérivés n'a pas abouti dans le temps imparti. À côté de cela, les conditions de conservation et notamment en ce qui concerne la température, se sont révélées indispensables à l'apparition de ces composés dans les vins. Nous pouvons imaginer que ces effets interviennent aussi avec d'autres composés du bouquet. De nombreuses perspectives sont définies, ouvrant la voie à des recherches fondamentales sur la question de l'origine de ces molécules.

Dans un troisième temps, une partie du projet de thèse s'est consacrée à suivre l'évolution du sulfure de diméthyle (DMS) au cours de la vie du vin. La mise à disposition d'une méthode de prédiction de ses teneurs (pDMS) mesurable sur les moûts et les vins, a permis de mettre en place de nombreux essais et à diverses échelles. Les résultats ont montré que la phase de maturation du raisin détermine la synthèse du pDMS dans la baie de raisin de merlot et de cabernet-sauvignon. La date de récolte influence les concentrations finales en pDMS dans les raisins puisque la « maturité du pDMS » dans les raisins de merlot coïncide en général avec la date de récolte de ce cépage. Le cas inverse est observé pour le cabernet-sauvignon et le petit verdot. Ensuite, les teneurs en pDMS dans les jus sont également modulées par le cépage, le millésime et le sol, bien qu'il n'existe pas de conditions uniques pour lesquelles les teneurs en pDMS seraient toujours supérieures. On retrouve ici la notion d'alliance vertueuse du sol et du complant dans un climat approprié. D'autre part, le lien entre l'azote assimilable et le pDMS s'est révélé être indicatif tandis que le lien avec le statut hydrique n'a pas donné de résultats

concluants. Les pratiques viticoles, en lien avec la modulation du statut azoté, ont été menées au vignoble, montrant que les sols et les pratiques de l'effeuillage et d'échardage pourraient avoir des effets sur les teneurs en pDMS dans les jus. Cependant, ces effets sont indissociables de l'expression de la vigne dans le millésime, qui apporte lui aussi des variations. Ensuite, la fermentation alcoolique est une étape déterminante dans la préparation de la libération du DMS depuis son précurseur. Cette étape engage une grande perte du potentiel en DMS quel que soit la composition azotée des moûts. Une alimentation azotée non limitante est au minimum indispensable pour permettre la préservation du pDMS au cours de cette étape. Enfin, une interaction entre le DMS et les tanins a été montrée en solution modèle, permettant de caractériser, par la suite, le mode de sorption. Cette interaction n'a pas été effective dans le vin mais des essais sont à mener en prenant en compte les autres constituants de la composition polyphénolique des vins. Une fois libéré dans le vin, le DMS contribue à de nombreuses expressions odorantes. La matrice dans laquelle il se trouve, sa concentration, ses capacités d'interaction avec les composants volatils et non volatils sont le siège d'un polymorphisme sensoriel qui pourrait participer au caractère « fascinant » du bouquet. Le mode de service, dernière étape de la vie du vin, influence grandement l'expression aromatique des vins. De longs et précis travaux œnologiques et viticoles pourraient être mis à mal par une mauvaise conservation ou un mauvais service. Au contraire, un service adapté et respectueux permet à cette molécule de s'exprimer dans le verre de dégustation, par de multiples images sensorielles. En plus de son intérêt positif dans le bouquet de vieillissement, le DMS a lui seul, dispose d'un bouquet d'odeurs. Sa présence dans les vins est intrigante et à la fois indispensable à la complexité et au polymorphisme du bouquet de vieillissement. Le recours à sa préservation dès le raisin est alors un enjeu conséquent pour pérenniser le potentiel de vieillissement des vins rouges à Bordeaux.

Les nombreuses expérimentations pluridisciplinaires et menées à différentes échelles (laboratoire, unités de production) ont permis de balayer un large champ d'investigations concernant le bouquet de vieillissement et son conditionnement dès la jeunesse du vin. Les résultats obtenus permettent aujourd'hui d'avancer sur la thématique du vieillissement qualitatif des vins et d'ouvrir la voie à de futurs travaux sur le sujet. Trois axes pourraient être suggérés pour approfondir le travail sur le bouquet de vieillissement et en parallèle, un axe pourrait être consacré à la poursuite d'étude sur le DMS.

Un axe sensoriel et moléculaire pourrait être envisagé afin de reproduire l'exercice de dégustation de verticales de vieux millésimes issus de crus de la région bordelaise, avec un panel entraîné au concept et aux odeurs du bouquet. L'acquisition de données robustes concernant la typicité et les intensités des odeurs du bouquet des vins pourraient permettre de mettre en évidence des spécificités aromatiques du bouquet de vieillissement selon l'aire géographique des vins dans la région bordelaise, ou alors de démontrer qu'il n'existe pas de spécificités et qu'au vieillissement, les odeurs des vins tendent vers un phénomène de convergence aromatique.

Ensuite, un travail sur les interactions perceptives du bouquet de vieillissement pourrait être effectué. La seule connaissance de la nature et des concentrations des composés odorants n'est pas suffisante pour comprendre les différentes facettes de l'arôme du bouquet de vieillissement. Il pourrait être envisagé de mettre en évidence certaines interactions perceptives. Le DMS et les composés à odeur « menthés », par exemple, pourraient constituer de bons candidats pour débuter cette étude. Le DMS pourrait participer aux odeurs de « réglisse » ou « épicées » et les composés « menthés » doivent être mis au regard de la « fraîcheur » des vins et pourquoi pas de la dimension « réglisse » également. Bien évidemment, la contribution sensorielle des terpènes doit être évisagée, étant donné que leurs teneurs dans les vins influencent la disctinction des crus du sous-espace bordelais. Il serait intéressant de voir si les différences de concentration de ces composés influencent aussi pertinament, l'expression sensorielle du bouquet.
Enfin, une étude moléculaire axée sur la quantification d'autres composés dans les vins tels que les thiols volatils, des lactones, des hétérocycles et des furanones pourraient complémenter les études de la composition des vieux vins et leur contribution au bouquet de vieillissement pourrait être étudiée.

Dans un futur proche, l'étude de l'origine des composés à odeur « menthée » pourrait être poursuivie. Ces travaux de thèse ont débouché sur la mise en évidence de nombreuses voies métaboliques qui seraient capable d'intervenir dans la formation de ces composés. Nous avons démontré lors de cette étude que de raisonner sur un vin déjà évolué pour comprendre le conditionnement du bouquet dès la jeunesse du vin était important mais pas suffisant. Il est clair qu'il faut concentrer les recherches sur la mise en évidence des précurseurs des molécules d'intérêts. Ce travail pourrait même constituer un projet de thèse, étant donné le nombre de paramètres à prendre en compte.

Un axe œnologique et agronomique pourrait être envisagé afin d'avancer sur la question de l'origine du bouquet en lien avec le terroir et les paramètres viticoles et œnologiques. Les précurseurs des molécules du bouquet connus, pourraient être confrontés (comme le DMS) aux éléments du terroir, pour comprendre lesquels favoriseraient leurs teneurs dans les moûts et dans les jeunes vins. Le même travail avec les composés à odeur « menthée » pourrait être intéressant, étant donné le peu de connaissances qui existent dans la littérature concernant la dynamique de ces composés dans les vins.
Les terpènes doivent aussi être étudiés étant donné que ce sont eux qui induisent une identité moléculaire aux crus du bordelais. L'étude de second vins des domaines pourrait être intéressante afin de comprendre si ces composés permettent aussi de caractériser les terroirs. Une étude plus fine à l'échelle parcellaire pourrait être envisagée. En considérant que ces composés sont essentiels à la discrimination des vins, des parcelles pourraient être étudiées, au regard de ces composés dans les raisins, pour voir ensuite lesquelles pourraient être valorisées à l'échelle d'un domaine, en vue d'une évolution unique des vins.
Enfin, il conviendrait également de mettre en place un plan expérimental de vieillissement d'un même vin et de suivre son évolution sensorielle et moléculaire au fil du temps. Ceci permettrait de limiter les biais des changements de température et des modifications de la composition moléculaire et sensorielle

liées à l'état d'oxydo-réduction du milieu. En effet, les conditions de températures se sont révélées assez intéressantes en terme de révélation des composés à odeur « menthée » dans les vins. En parallèle, des plans expérimentaux devront être construits au laboratoire, pour étudier les conditions de garde (température, hygrométrie) des vins vis-à-vis de l'évolution des molécules du bouquet.

Un axe concernant le DMS

L'aperçu du DMS au cours des étapes clés de la vie du vin a permis d'acquérir de nombreuses connaissances mais pour la plupart, il reste des notions à étudier. Par exemple, dans un objectif d'obtenir du DMS dans les vins, la préservation de son précurseur au cours de la fermentation alcoolique est essentielle. Ce point la doit-être considéré en priorité.

Ensuite, la caractérisation des phases de maturation des cépages rouges du bordelais sur de nombreux millésimes peut aussi constituer un projet. L'avancée des stades phénologiques et les millésimes de plus en plus hétérogènes obligent à considérer des changements dans la production des vins. L'étude de la hiérarchie de l'influence des paramètres viticoles sur les teneurs en pDMS pourrait également être effectuée. Cela permettrait de connaître quel paramètre impacte le plus le pDMS lorsque tous les facteurs sont liés entre eux. La stratégie adoptée par Van leeuwen et al., (2004) pourrait être utilisée. La mise en place de la méthode de dosage de la SMM dans les moûts et les vins pourrait aussi constituer une priorité tant pour l'aspect viticole que pour l'aspect fermentaire du « projet DMS ».

Enfin, la poursuite d'étude sur les interactions avec les polyphénols du vin pourrait être menée. D'autres espèces de la famille des polyphénols pourraient être testées et des essais en complexifiant la matrice modèle « vin » pas à pas pourraient avoir lieu. Un travail avec des monomères de tanins plus ou moins oxydés pourraient être effectué, afin de faire référence aux tanins des vins vieux. Une étude à l'échelle du laboratoire est primordiale avant de réaliser des essais de transfert. Le travail concernant le DMS peut constituer à lui seul, un projet de recherche.

Finalement, ce travail de thèse entame le travail du conditionnement du bouquet de vieillissement dès la jeunesse du vin, tout en continuant d'apporter des connaissances moléculaires et sensorielles sur les vins vieux de qualité. Certains des essais réalisés ont été concluants et ont permis d'ouvrir la voie à de nombreuses perspectives de recherches. Des priorités devront être définies pour *in fine*, proposer des outils viticoles, œnologiques et de conservation qui permettront de favoriser le développement du bouquet de vieillissement des vins. Ces recherches sont indispensables dans le contexte socio-économique actuel dont la pérénité du vignoble, la typicité des vins et la réduction des intrants sont des enjeux essentiels. Elles permettraient de maintenir la qualité et le potentiel de vieillissement qui fait la renommée mondiale des vins de Bordeaux.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

A

Aasen, A.J., Kimland, B., Almqvist, S.-O., Enzell, C.R., and Svensson, S. (1972). Tobacco Chemistry. 15. New Tobacco Constituents. The Structures of Five Isomeric Megastigmatrienones. Acta Chemica Scandinavica *26*, 2573–2576.

Aerny, J. (1996). Composés azotés des moûts et des vins. Revue Suisse Viticulture Arboriculture Horticulture *28*, 161–165.

Alonso, R., Berli, F.J., Fontana, A., Piccoli, P., and Bottini, R. (2016). Malbec grape (Vitis vinifera L.) responses to the environment: Berry phenolics as influenced by solar UV-B, water deficit and sprayed abscisic acid. Plant Physiology and Biochemistry *109*, 84–90.

Andujar-Ortiz, I., Moreno-Arribas, M.V., Martín-Álvarez, P.J., and Pozo-Bayón, M.A. (2009). Analytical performance of three commonly used extraction methods for the gas chromatography–mass spectrometry analysis of wine volatile compounds. Journal of Chromatography A *1216*, 7351–7357.

Anness, B.J., and Bamforth, C.W. (1982). Dimethyl Sulphide—a Review. Journal of the Institute of Brewing *88*, 244–252.

Anocibar Beloqui, Á. (1998). Contribution à l'étude des composés soufrés volatils des vins rouges. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

Anocibar Beloqui, Á., Kotseridis, Y., and Bertrand, A. (1996). Détermination de la teneur en sulfure de diméthyle dans quelques vins rouges. Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin *30*, 167–170.

Antalick, G. (2010). Bilan biochimique et sensoriel des modifications de la note fruitée des vins rouges lors de la fermentation malolactique : rôle particulier des esters. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

Antalick, G., Perello, M.-C., and de Revel, G. (2010). Development, validation and application of a specific method for the quantitative determination of wine esters by headspace-solid-phase microextraction-gas chromatography–mass spectrometry. Food Chemistry *121*, 1236–1245.

Antalick, G., Perello, M.-C., and de Revel, G. (2012). Characterization of Fruity Aroma Modifications in Red Wines during Malolactic Fermentation. Journal of Agricultural and Food Chemistry *60*, 12371–12383.

Antalick, G., Perello, M.-C., and Revel, G. de (2014). Esters in Wines: New Insight through the Establishment of a Database of French Wines. American Journal of Enology and Viticulture *65*, 293–304.

Antalick, G., Tempère, S., Šuklje, K., Blackman, J.W., Deloire, A., de Revel, G., and Schmidtke, L.M. (2015). Investigation and Sensory Characterization of 1,4-Cineole: A Potential Aromatic Marker of Australian Cabernet Sauvignon Wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry *63*, 9103–9111.

Aronson, J., and Ebeler, S.E. (2004). Effect of Polyphenol Compounds on the Headspace Volatility of Flavors. American Journal of Enology and Viticulture *55*, 13–21.

Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Langlois, D., Nicklaus, S., and Etievant, P. (2004). Perceptual interactions between fruity and woody notes of wine. Flavour and Fragrance Journal *19*, 476–482.

Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Langlois, D., Nicklaus, S., Chabanet, C., and Etiévant, P. (2005a). Perception of wine fruity and woody notes: influence of peri-threshold odorants. Food Quality and Preference *16*, 504–510.

Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Chabanet, C., Langlois, D., Nicklaus, S., and Etiévant, P. (2005b). Perceptual Interactions in Odour Mixtures: Odour Quality in Binary Mixtures of Woody and Fruity Wine Odorants. Chem Senses *30*, 209–217.

Aubin, G., Lavaud, S., and Roudié, P. (1996). Bordeaux, vignoble millénaire (L'Horizon Chimérique).

Aznar, M., López, R., Cacho, J., and Ferreira, V. (2003). Prediction of Aged Red Wine Aroma Properties from Aroma Chemical Composition. Partial Least Squares Regression Models. Journal of Agricultural and Food Chemistry *51*, 2700–2707.

Azzi-Achkouty, S., Estephan, N., Ouaini, N., and Rutledge, D.N. (2017). Headspace solid-phase microextraction for wine volatile analysis. Critical Reviews in Food Science and Nutrition *57*, 2009–2020.

B

Ballester, J., Dacremont, C., Fur, Y.L., and Etiévant, P. (2005). The role of olfaction in the elaboration and use of the Chardonnay wine concept. Food Quality and Preference *16*, 351–359.

Ballester, J., Patris, B., Symoneaux, R., and Valentin, D. (2008). Conceptual vs. perceptual wine spaces: Does expertise matter? Food Quality and Preference *19*, 267–276.

Barbe, J.-C., and Bertrand, A. (1996). Quantitative analysis of volatile compounds stemming from oak wood. Applications to the aging of wines in barrels. Journal Des Sciences et Techniques de La Tonnellerie (France).

Barker, D.A., Capone, D.L., Pollnitz, A.P., McLean, H.J., Francis, I.L., Oakey, H., and Sefton, M.A. (2001). Absorption of 2,4,6-trichloroanisole by wine corks via the vapour phase in an enclosed environment. Australian Journal of Grape and Wine Research *7*, 40–46.

Barthélémy, J. (2009). Evaluation d'une grandeur sensorielle complexe : description quantifiée. In Evaluation Sensorielle. Manuel Méthodologique, (Paris: Tec & Doc), pp. 159–173.

Baumes, R., Wirth, J., Bureau, S., Gunata, Y., and Razungles, A. (2002). Biogeneration of C13-norisoprenoid compounds: experiments supportive for an apo-carotenoid pathway in grapevines. Analytica Chimica Acta *458*, 3–14.

Bekker, M.Z., Mierczynska-Vasilev, A., Smith, P.A., and Wilkes, E.N. (2016). The effects of pH and copper on the formation of volatile sulfur compounds in Chardonnay and Shiraz wines post-bottling. Food Chemistry *207*, 148–156.

Bell, S.-J., and Henschke, P.A. (2005). Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. Australian Journal of Grape and Wine Research *11*, 242–295.

Bely, M., Sablayrolles, J.-M., and Barre, P. (1990). Automatic detection of assimilable nitrogen deficiencies during alcoholic fermentation in oenological conditions. Journal of Fermentation and Bioengineering *70*, 246–252.

Bely, M., Salmon, J.M., and Barre, P. (1994). Assimilable Nitrogen Addition and Hexose Transport System Activity During Enological Fermentation. Journal of the Institute of Brewing *100*, 279–282.

Bindon, K.A., Dry, P.R., and Loveys, B.R. (2007). Influence of Plant Water Status on the Production of C13-Norisoprenoid Precursors in Vitis vinifera L. Cv. Cabernet Sauvignon Grape Berries. Journal of Agricultural and Food Chemistry *55*, 4493–4500.

Blanchard, L., Tominaga, T., and Dubourdieu, D. (2001). Formation of Furfurylthiol Exhibiting a Strong Coffee Aroma during Oak Barrel Fermentation from Furfural Released by Toasted Staves. Journal of Agricultural and Food Chemistry *49*, 4833–4835.

Bloem, A. (2005). Activités glycosidases chez Œnococcus œni : importance dans la libération de la vanilline à partir de bois de chêne. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

Bloem, A., Lonvaud-Funel, A., and de Revel, G. (2008). Hydrolysis of glycosidically bound flavour compounds from oak wood by Oenococcus oeni. Food Microbiology *25*, 99–104.

Boidron, J.-N., Chatonnet, P., and Pons, M. (1988). Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. OENO One *22*, 275–294.

Bouchilloux, P., Darriet, P., Henry, R., Lavigne-Cruège, V., and Dubourdieu, D. (1998). Identification of Volatile and Powerful Odorous Thiols in Bordeaux Red Wine Varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry *46*, 3095–3099.

Bourgis, F., Roje, S., Nuccio, M.L., Fisher, D.B., Tarczynski, M.C., Li, C., Herschbach, C., Rennenberg, H., Pimenta, M.J., Shen, T.-L., et al. (1999). S-Methylmethionine Plays a Major Role in Phloem Sulfur Transport and Is Synthesized by a Novel Type of Methyltransferase. The Plant Cell *11*, 1485–1497.

Bouty, E. (2018). L'utilisation du CORAVIN® pour l'échantillonnage des vins pour l'analyse (Faculté des Sciences fondamentales et appliquées de Poitiers).

Bradfer, A., Bompas, O., Casamayor, P., Cobbold, D., Durand-Viel, S., Kennel, F., Lebègue, A., and Mialon, B. (2013). Encyclopédie Hachette des Vins (Paris).

Breeden, D.C., and Juvik, J.A. (1992). An extraction method for the determination of dimethyl sulfide in cooked corn. Journal of Food Composition and Analysis *5*, 134–138.

Burdock, G.A. (2016). Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients (CRC Press).

Buttery, R.G., Seifert, R.M., Guadagni, D.G., and Ling, L.C. (1971). Characterization of additional volatile components of tomato. Journal of Agricultural and Food Chemistry *19*, 524–529.

C

Cadahía, E., Fernández de Simón, B., Sanz, M., Poveda, P., and Colio, J. (2009). Chemical and chromatic characteristics of Tempranillo, Cabernet Sauvignon and Merlot wines from DO Navarra aged in Spanish and French oak barrels. Food Chemistry *115*, 639–649.

Cadot, Y. (2006). Le lien du vin au terroir: Complexité du concept de typicité. Revue Des Oenologues et Des Techniques Vitivinicoles et Oenologiques *118*, 9–11.

Cadot, Y., Caillé, S., Samson, A., Barbeau, G., and Cheynier, V. (2010). Sensory dimension of wine typicality related to a terroir by Quantitative Descriptive Analysis, Just About Right analysis and typicality assessment. Analytica Chimica Acta *660*, 53–62.

Callejón, R.M., Tesfaye, W., Torija, M.J., Mas, A., Troncoso, A.M., and Morales, M.L. (2009). Volatile compounds in red wine vinegars obtained by submerged and surface acetification in different woods. Food Chemistry *113*, 1252–1259.

Cameleyre, M. (2017). Contribution à l'étude de l'expression aromatique fruitée des vins rouges : Importance du niveau pré-sensoriel dans les interactions perceptives. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux.

Cameleyre, M., Lytra, G., Tempere, S., and Barbe, J.-C. (2017). 2-Methylbutyl acetate in wines: Enantiomeric distribution and sensory impact on red wine fruity aroma. Food Chemistry *237*, 364–371.

Cameleyre, M., Lytra, G., Schütte, L., Vicard, J.-C., and Barbe, J.-C. (2020). Oak Wood Volatiles Impact on Red Wine Fruity Aroma Perception in Various Matrices. Journal of Agricultural and Food Chemistry.

Capone, D.L., Van Leeuwen, K., Taylor, D.K., Jeffery, D.W., Pardon, K.H., Elsey, G.M., and Sefton, M.A. (2011). Evolution and Occurrence of 1,8-Cineole (Eucalyptol) in Australian Wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry *59*, 953–959.

Capone, D.L., Jeffery, D.W., and Sefton, M.A. (2012). Vineyard and Fermentation Studies To Elucidate the Origin of 1,8-Cineole in Australian Red Wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry *60*, 2281–2287.

Carbonneau, A. (2001). Influence des facteurs climatiques sur la constitution des raisins. Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin *35*, 35–46.

Carmona, M., Martínez, J., Zalacain, A., Rodríguez-Méndez, M.L., de Saja, J.A., and Alonso, G.L. (2006). Analysis of saffron volatile fraction by TD–GC–MS and e-nose. European Food Research and Technology *223*, 96–101.

Casabianca, F., Sylvander, B., Noël, Y., Béranger, C., Coulon, J.-B., Giraud, G., Flutet, G., Roncin, F., and Vincent, E. (2006). Terroir et typicité: propositions de définitions pour deux notions essentielles à l'appréhension des Indications Géographiques et du développement durable. Actes Du VIème Congrès International Des Terroirs Viticoles 3–7.

Casalta, E., Sablayrolles, J.-M., and Salmon, J.-M. (2013). Comparison of different methods for the determination of assimilable nitrogen in grape musts. LWT - Food Science and Technology *54*, 271–277.

Cerdán, T.G., Rodríguez Mozaz, S., and Ancín Azpilicueta, C. (2002). Volatile composition of aged wine in used barrels of French oak and of American oak. Food Research International *35*, 603–610.

Charalambous, G. (2012). The Quality of Foods and Beverages V2: Chemistry and Technology (Elsevier).

Charters, S., and Pettigrew, S. (2006). Product involvement and the evaluation of wine quality. Qualitative Market Research: An International Journal *9*, 181–193.

Chatonnet, P. (1995). Influence des procédés de tonnellerie et des conditions d'élevage sur la composition et la qualité des vins élevés en fûts de chêne. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

Chatonnet, P. (2002). Composés volatils et odorants des vins élevés en barriques. Incidence des pratiques de tonnellerie et des conditions d'élevage des vins. Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin *36*, 53–64.

Chatonnet, P., Dubourdieu, D., Boidron, J., and Pons, M. (1992). The origin of ethylphenols in wines. Journal of the Science of Food and Agriculture *60*, 165–178.

Chatonnet, P., Guimberteau, G., Dubourdieu, D., and Boidron, J.-N. (1994). Nature et origine des odeurs de "moisi" dans les caves. Incidences sur la contamination des vins. OENO One *28*, 131–151.

Chatonnet, P., Cutzach, I., Pons, M., and Dubourdieu, D. (1999). Monitoring Toasting Intensity of Barrels by Chromatographic Analysis of Volatile Compounds from Toasted Oak Wood. Journal of Agricultural and Food Chemistry *47*, 4310–4318.

Chatonnet, P., Bonnet, S., Boutou, S., and Labadie, M.-D. (2004). Identification and Responsibility of 2,4,6-Tribromoanisole in Musty, Corked Odors in Wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry *52*, 1255–1262.

Choi, Y., Sims, G.E., Murphy, S., Miller, J.R., and Chan, A.P. (2012). Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels. PloS One *7*, e46688.

Chollet, S., and Valentin, D. (2000). Le degré d'expertise a-t-il une influence sur la perception olfactive ? Quelques éléments de réponse dans le domaine du vin. L'Année psychologique *100*, 11–36.

Choné, X., Van Leeuwen, C., Dubourdieu, D., and Gaudillère, J.-P. (2001a). Stem Water Potential is a Sensitive Indicator of Grapevine Water Status. Annals of Botany *87*, 477–483.

Choné, X., Van Leeuwen, C., Chery, P., and Ribereau-Gayon, P. (2001b). Terroir Influence on Water Status and Nitrogen Status of non-Irrigated Cabernet Sauvignon (Vitis vinifera). Vegetative Development, Must and Wine Composition (Example of a Medoc Top Estate Vineyard, Saint Julien Area, Bordeaux, 1997). South African Journal of Enology and Viticulture *22*, 8–15.

Choné, X., Lavigne-Cruège, V., Tominaga, T., Van Leeuwen, C., Castagnède, C., Saucier, C., and Dubourdieu, D. (2006). Effect of vine nitrogen status on grape aromatic potential: flavor precursors (S-cysteine conjugates), glutathione and phenolic content in Vitis vinifera L. cv Sauvignon blanc grape juice. OENO One *40*, 1–6.

Cohen, H., Salmon, A., Tietel, Z., Hacham, Y., and Amir, R. (2017). The relative contribution of genes operating in the S-methylmethionine cycle to methionine metabolism in Arabidopsis seeds. Plant Cell Reports *36*, 731–743.

Comelli, N.A., Ponzi, E.N., and Ponzi, M.I. (2005). Isomerization of α-pinene, limonene, α-terpinene, and terpinolene on sulfated zirconia. Journal of the American Oil Chemists' Society *82*, 531–535.

Cordeau, J. (2001). Cépages rouges en Bordelais. Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin *35*, 67–76.

Coulon, P., and Abbal, P. (2013). Pourquoi un vin est-il bon ? : L'analyse d'un vigneron et d'un scientifique (Editions France Agricole).

Cretin, B. (2016). Recherches sur les déterminants moléculaires contribuant à l'équilibre gustatif des vins secs. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux.

Cretin, B.N., Sallembien, Q., Sindt, L., Daugey, N., Buffeteau, T., Waffo-Teguo, P., Dubourdieu, D., and Marchal, A. (2015). How stereochemistry influences the taste of wine: Isolation, characterization and sensory evaluation of lyoniresinol stereoisomers. Analytica Chimica Acta *888*, 191–198.

Cretin, B.N., Waffo-Teguo, P., Dubourdieu, D., and Marchal, A. (2019). Taste-guided isolation of sweet-tasting compounds from grape seeds, structural elucidation and identification in wines. Food Chemistry *272*, 388–395.

Culleré, L., Escudero, A., Cacho, J., and Ferreira, V. (2004). Gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of six premium quality spanish aged red wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry *52*, 1653–1660.

Cutzach, I., Chatonnet, P., Henry, R., and Dubourdieu, D. (1997). Identification of Volatile Compounds with a "Toasty" Aroma in Heated Oak Used in Barrelmaking. Journal of Agricultural and Food Chemistry *45*, 2217–2224.

Cutzach, I., Chatonnet, P., and Dubourdieu, D. (1998). Study on sweet natural non Muscat wine aroma 1st part: qualitative analysis of sweet natural wines aroma found during ageing. OENO One *32*, 99–110.

D

Dagan, L. (2006). Potentiel aromatique des raisins de Vitis vinifera L. Cv. Petit Manseng et Gros Manseng. Contribution à l'arôme des vins de pays Côtes de Gascogne. Thèse de Doctorat. École nationale supérieure agronomique.

Dagan, L., and Schneider, R. (2013). Le sulfure de diméthyle: quels moyens pour gérer ses teneurs dans les vins en bouteilles ? Revue Internet de Viticulture et Oenologie 7–10.

Danilewicz, J.C. (2012). Review of Oxidative Processes in Wine and Value of Reduction Potentials in Enology. American Journal of Enology and Viticulture *63*, 1–10.

Danilewicz, J.C., Tunbridge, P., and Kilmartin, P.A. (2019). Wine Reduction Potentials: Are These Measured Values Really Reduction Potentials? Journal of Agricultural and Food Chemistry *67*, 4145–4153.

Darriet, P., Pons, M., Lamy, S., and Dubourdieu, D. (2000). Identification and Quantification of Geosmin, an Earthy Odorant Contaminating Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry *48*, 4835–4838.

Davis, C.R., Wibowo, D., Eschenbruch, R., Lee, T.H., and Fleet, G.H. (1985). Practical Implications of Malolactic Fermentation: A Review. American Journal of Enology and Viticulture *36*, 290–301.

Deed, R.C., Pilkington, L.I., Herbst-Johnstone, M., Miskelly, G.M., Barker, D., and Fedrizzi, B. (2019). A new analytical method to measure S-methyl-l-methionine in grape juice reveals the influence of yeast on dimethyl sulfide production during fermentation. Journal of the Science of Food and Agriculture.

Deloire, A., Vaudour, E., Carey, V.A., Bonnardot, V., and Van Leeuwen, C. (2005). Grapevine responses to terroir: a global approach. OENO One *39*, 149–162.

Deytieux-Belleau, C., Gagné, S., L'Hyvernay, A., Donèche, B., and Geny, L. (2007). Possible roles of both abscisic acid and indol-acetic acid in controlling grape berry ripening process. OENO One *41*, 141–148.

Díaz-Maroto, M.C., Schneider, R., and Baumes, R. (2005). Formation pathways of ethyl esters of branched short-chain fatty acids during wine aging. Journal of Agricultural and Food Chemistry *53*, 3503–3509.

Díaz-Maroto, M.C., Guchu, E., Castro-Vázquez, L., Torres, C. de, and Pérez-Coello, M.S. (2008). Aroma-active compounds of American, French, Hungarian and Russian oak woods, studied by GC–MS and GC–O. Flavour and Fragrance Journal *23*, 93–98.

Díaz-Plaza, E.M., Reyero, J.R., Pardo, F., and Salinas, M.R. (2002). Comparison of wine aromas with different tannic content aged in French oak barrels. Analytica Chimica Acta *458*, 139–145.

Donarski, J.A., Jones, S.A., Harrison, M., Driffield, M., and Charlton, A.J. (2010). Identification of botanical biomarkers found in Corsican honey. Food Chemistry *118*, 987–994.

Dubourdieu, D. (2003). Expression et complémentarité des cépages sur les différents sols viticoles de Bordeaux.

Dubourdieu, D. (2012). Oeno 2011 Actes de colloques du 9e symposium international d'oenologie de Bordeaux (Dunod).

Dubourdieu, F. (1992). Les grands bordeaux de 1945 à 1988 (Mollat).

Duetz, W.A., Bouwmeester, H., van Beilen, J.B., and Witholt, B. (2003). Biotransformation of limonene by bacteria, fungi, yeasts, and plants. Applied Microbiology and Biotechnology *61*, 269–277.

Dufour, C., and Bayonove, C.L. (1999a). Interactions between Wine Polyphenols and Aroma Substances. An Insight at the Molecular Level. Journal of Agricultural and Food Chemistry *47*, 678–684.

Dufour, C., and Bayonove, C.L. (1999b). Influence of Wine Structurally Different Polysaccharides on the Volatility of Aroma Substances in a Model System. Journal of Agricultural and Food Chemistry *47*, 671–677.

Dugo, G., Bartle, K.D., Stagno d'Alcontres, I., Trozzi, A., Verzera, A., Bonaccorsi, I., Catalfamo, M., Cotroneo, A., Dugo, P., Lamonica, G., et al. (1999). Advanced analytical techniques for the analysis of citrus essential oils. Part 1. Volatile fraction : HRGC/MS analysis. Essenze Derivati Agrumari *69*, 79–111.

Dunlevy, J.D., Soole, K.L., Perkins, M.V., Nicholson, E.L., Maffei, S.M., and Boss, P.K. (2013). Determining the Methoxypyrazine Biosynthesis Variables Affected by Light Exposure and Crop Level in Cabernet Sauvignon. American Journal of Enology and Viticulture *64*, 450–458.

Dvaranauskaite, A., Venskutonis, P.R., Raynaud, C., Talou, T., Viškelis, P., and Dambrauskiene, E. (2008). Characterization of Steam Volatiles in the Essential Oil of Black Currant Buds and the Antioxidant Properties of Different Bud Extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry *56*, 3279–3286.

E

Ebeler, S.E., and Thorngate, J.H. (2009). Wine Chemistry and Flavor: Looking into the Crystal Glass. Journal of Agricultural and Food Chemistry *57*, 8098–8108.

Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., and Ferreira, V. (2007). Analytical Characterization of the Aroma of Five Premium Red Wines. Insights into the Role of Odor Families and the Concept of Fruitiness of Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry *55*, 4501–4510.

Etievant, P.X. (1991). Volatile compounds in food and beverages. In Wine, (Marcel Dekker New York), pp. 483–546.

F

Faire le tour du monde en parfums (2014). Les notes de synthèse phares chez les parfums Guerlain.

Falcão, L.D., de Revel, G., Perello, M.C., Moutsiou, A., Zanus, M.C., and Bordignon-Luiz, M.T. (2007). A Survey of Seasonal Temperatures and Vineyard Altitude Influences on 2-Methoxy-3-isobutylpyrazine, C13-Norisoprenoids, and the Sensory Profile of Brazilian Cabernet Sauvignon Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry *55*, 3605–3612.

Falcão, L.D., Lytra, G., Darriet, P., and Barbe, J.-C. (2012). Identification of ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate in red wines, a compound involved in blackberry aroma. Food Chemistry *132*, 230–236.

Fariña, L., Boido, E., Carrau, F., Versini, G., and Dellacassa, E. (2005). Terpene Compounds as Possible Precursors of 1,8-Cineole in Red Grapes and Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry *53*, 1633–1636.

Fedrizzi, B., Magno, F., Badocco, D., Nicolini, G., and Versini, G. (2007a). Aging Effects and Grape Variety Dependence on the Content of Sulfur Volatiles in Wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry *55*, 10880–10887.

Fedrizzi, B., Magno, F., Moser, S., Nicolini, G., and Versini, G. (2007b). Concurrent quantification of light and heavy sulphur volatiles in wine by headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography/mass spectrometry. Rapid Communications in Mass Spectrometry *21*, 707–714.

Fedrizzi, B., Magno, F., Finato, F., and Versini, G. (2010). Variation of Some Fermentative Sulfur Compounds in Italian "Millesimè" Classic Sparkling Wines during Aging and Storage on Lees. Journal of Agricultural and Food Chemistry *58*, 9716–9722.

Fernández-González, M., and Di Stefano, R. (2004). Fractionation of glycoside aroma precursors in neutral grapes. Hydrolysis and conversion by Saccharomyces cerevisiae. LWT - Food Science and Technology *37*, 467–473.

Ferreira, V., López, R., Escudero, A., and Cacho, J.F. (1998). Quantitative determination of trace and ultratrace flavour active compounds in red wines through gas chromatographic–ion trap mass spectrometric analysis of microextracts. Journal of Chromatography A *806*, 349–354.

Ferreira, V., López, R., and Cacho, J.F. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. Journal of the Science of Food and Agriculture *80*, 1659–1667.

Ferreira, V., Aznar, M., López, R., and Cacho, J. (2001). Quantitative Gas Chromatography−Olfactometry Carried out at Different Dilutions of an Extract. Key Differences in the Odor Profiles of Four High-Quality Spanish Aged Red Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry *49*, 4818–4824.

Ferreira, V., Bueno, M., Franco-Luesma, E., Culleré, L., and Fernández-Zurbano, P. (2014). Key Changes in Wine Aroma Active Compounds during Bottle Storage of Spanish Red Wines under Different Oxygen Levels. Journal of Agricultural and Food Chemistry *62*, 10015–10027.

Feuillat, F., Keller, R., Sauvageot, F., and Puech, J.-L. (1999). Characterization of French Oak Cooperage (Quercus robur L., Quercus petraea Liebl.). Research of the Study Group on Barrel-Aging Burgundy Wines. American Journal of Enology and Viticulture *50*, 513–518.

Flament, I. (2001). Coffee Flavor Chemistry (John Wiley & Sons).

Fournand, D., Vicens, A., Sidhoum, L., Souquet, J.-M., Moutounet, M., and Cheynier, V. (2006). Accumulation and Extractability of Grape Skin Tannins and Anthocyanins at Different Advanced Physiological Stages. Journal of Agricultural and Food Chemistry *54*, 7331–7338.

Franc, C., David, F., and de Revel, G. (2009). Multi-residue off-flavour profiling in wine using stir bar sorptive extraction–thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. Journal of Chromatography A *1216*, 3318–3327.

Francis, I.L., and Newton, J.L. (2005). Determining wine aroma from compositional data. Australian Journal of Grape and Wine Research *11*, 114–126.

Franco-Luesma, E., and Ferreira, V. (2016). Formation and Release of H2S, Methanethiol, and Dimethylsulfide during the Anoxic Storage of Wines at Room Temperature. Journal of Agricultural and Food Chemistry *64*, 6317–6326.

G

Gammacurta, M. (2014). Approches sensorielle et analytique de l'arôme fruité des vins rouges : infuence relative des levures et des bactéries lactiques. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux.

Gammacurta, M., Waffo-Teguo, P., Winstel, D., Cretin, B.N., Sindt, L., Dubourdieu, D., and Marchal, A. (2019). Triterpenoids from Quercus petraea: Identification in Wines and Spirits and Sensory Assessment. Journal of Natural Products *82*, 265–275.

Gammacurta, M., Waffo-Teguo, P., Winstel, D., Dubourdieu, D., and Marchal, A. (2020). Isolation of Taste-Active Triterpenoids from Quercus robur: Sensory Assessment and Identification in Wines and Spirit. Journal of Natural Products *83*, 1611–1622.

Garde-Cerdán, T., and Ancín-Azpilicueta, C. (2006). Review of quality factors on wine ageing in oak barrels. Trends in Food Science & Technology *17*, 438–447.

Gaudillère, J.-P., Van Leeuwen, C., and Trégoat, O. (2001). The assessment of vine water uptake conditions by 13C/12C discrimination in grape sugar. OENO One *35*, 195–205.

Gaudillère, J.-P., Van Leeuwen, C., and Ollat, N. (2002). Carbon isotope composition of sugars in grapevine, an integrated indicator of vineyard water status. Journal of Experimental Botany *53*, 757–763.

Geffroy, O., Siebert, T., Herderich, M., Mille, B., and Serrano, E. (2016). On-vine grape drying combined with irrigation allows to produce red wines with enhanced phenolic and rotundone concentrations. Scientia Horticulturae *207*, 208–217.

Geffroy, O., Descôtes, J., Levasseur-Garcia, C., Debord, C., Denux, J.-P., and Dufourcq, T. (2019). A 2-year multisite study of viticultural and environmental factors affecting rotundone concentration in Duras red wine. OENO One *53*.

Geny, L., Dubourdieu, D., and Marchal, A. (2010). Les lettres du millésime. *https://www.bordeauxraisins.fr/les-millesimes.html*

Ghidossi, R., Qiu, Y., Lacampagne, S., Mirabel, M., Renouf, V., and Mietton-Peuchot, M. (2018). Oxygen desorption and oxygen transfer through oak staves and oak stave gaps: an innovative permeameter. OENO One *52*, 1–14.

Gibson, R.M., Large, P.J., and Bamforth, C.W. (1985). The Influence of Assimilable Nitrogen Compounds in Wort on the Ability of Yeast to Reduce Dimethyl Sulphoxide. Journal of the Institute of Brewing *91*, 401–405.

Giles, C.H., and Smith, D. (1974). A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. I. Theoretical. Journal of Colloid and Interface Science *47*, 755–765.

Giles, C.H., D'Silva, A.P., and Easton, I.A. (1974). A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm part. II. Experimental interpretation. Journal of Colloid and Interface Science *47*, 766–778.

Giordano, M., Zecca, O., Belviso, S., Reinotti, M., Gerbi, V., and Rolle, L. (2013). Volatile fingerprint and physico-mechanical properties of 'muscat blanc' grapes grown in mountain area: a first evidence of the influence of water regimes. Italian Journal of Food Science *25*, 329–338.

Goldner, M.C., di Leo Lira, P., Van Baren, C., and Bandoni, A. (2011). Influence of polyphenol levels on the perception of aroma in Vitis vinifera cv. Malbec wine. South African Journal of Enology and Viticulture *32*, 21–27.

González-Barreiro, C., Rial-Otero, R., Cancho-Grande, B., and Simal-Gándara, J. (2015). Wine Aroma Compounds in Grapes: A Critical Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition *55*, 202–218.

González-Centeno, M.R., Chira, K., and Teissedre, P.-L. (2016). Ellagitannin content, volatile composition and sensory profile of wines from different countries matured in oak barrels subjected to different toasting methods. Food Chemistry *210*, 500–511.

Goto, S., and Takamuro, R. (1987). Concentration of dimethyl sulphide in wine after different storage times. Hakkokogaku Kaishi *65*, 53–57.

Gougeon, L. (2019). Application de la métabolomique par spectroscopie RMN 1H à l'authentification des vins. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux.

Gougeon, L., da Costa, G., Guyon, F., and Richard, T. (2019). 1H NMR metabolomics applied to Bordeaux red wines. Food Chemistry *301*, 125257.

Gros, J., Lavigne, V., Thibaud, F., Gammacurta, M., Moine, V., Dubourdieu, D., Darriet, P., and Marchal, A. (2017). Toward a Molecular Understanding of the Typicality of Chardonnay Wines: Identification of Powerful Aromatic Compounds Reminiscent of Hazelnut. Journal of Agricultural and Food Chemistry *65*, 1058–1069.

Guillén, M.D., and Manzanos, M.J. (2002). Study of the volatile composition of an aqueous oak smoke preparation. Food Chemistry *79*, 283–292.

Gunata, Y.Z., Bayonove, C.L., Baumes, R.L., and Cordonnier, R.E. (1985). The aroma of grapes I. Extraction and determination of free and glycosidically bound fractions of some grape aroma components. Journal of Chromatography A *331*, 83–90.

Guth, H. (1997). Quantitation and Sensory Studies of Character Impact Odorants of Different White Wine Varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry *45*, 3027–3032.

Guyon, F., Van Leeuwen, C., Gaillard, L., Grand, M., Akoka, S., Remaud, G.S., Sabathié, N., and Salagoïty, M.-H. (2015). Comparative study of 13C composition in ethanol and bulk dry wine using isotope ratio monitoring by mass spectrometry and by nuclear magnetic resonance as an indicator of vine water status. Analytical and Bioanalytical Chemistry *407*, 9053–9060.

H

Habran, A., Commisso, M., Helwi, P., Hilbert, G., Negri, S., Ollat, N., Gomès, E., Van Leeuwen, C., Guzzo, F., and Delrot, S. (2016). Roostocks/Scion/Nitrogen Interactions Affect Secondary Metabolism in the Grape Berry. Frontiers in Plant Science *7*, 1–11.

Harris, S.A., Ryona, I., and Sacks, G.L. (2012). Behavior of 3-Isobutyl-2-hydroxypyrazine (IBHP), a Key Intermediate in 3-Isobutyl-2-methoxypyrazine (IBMP) Metabolism, in Ripening Wine Grapes. Journal of Agricultural and Food Chemistry *60*, 11901–11908.

Hayasaka, Y., Wilkinson, K.L., Elsey, G.M., Raunkjær, M., and Sefton, M.A. (2007). Identification of Natural Oak Lactone Precursors in Extracts of American and French Oak Woods by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry *55*, 9195–9201.

Helwi, P., Guillaumie, S., Thibon, C., Keime, C., Habran, A., Hilbert, G., Gomes, E., Darriet, P., Delrot, S., and van Leeuwen, C. (2016). Vine nitrogen status and volatile thiols and their precursors from plot to transcriptome level. BMC Plant Biology *16*.

Hervé, E., Price, S., and Burns, G. (2003). Eucalyptol in wines showing a "eucalyptus" aroma. In Proc. VIIeme Symp. Internat. d'Oenologie, Actualites Oenologiques, pp. 19–21.

Heymann, H., and Noble, A.C. (1987). Descriptive Analysis of Commercial Cabernet Sauvignon Wines from California. American Journal of Enology and Viticulture *38*, 41–44.

Hinnewinkel, J.-C. (1999). Appellations et terroirs en Bordelais. Travaux du Laboratoire de Géographie Physique Appliquée *17*, 9–24.

Homatidou, V.I., Karvouni, S.S., Dourtoglou, V.G., and Poulos, C.N. (1992). Determination of total volatile components of Cucumis melo L. variety cantaloupensis. Journal of Agricultural and Food Chemistry *40*, 1385–1388.

Honoré-Chedozeau, C., Desmas, M., Ballester, J., Parr, W.V., and Chollet, S. (2019). Representation of wine and beer: influence of expertise. Current Opinion in Food Science *27*, 104–114.

Hopfer, H., and Heymann, H. (2014). Judging wine quality: Do we need experts, consumers or trained panelists? Food Quality and Preference *32*, 221–233.

Huet, R. (1991). Les huiles essentielles d'agrumes. Fruits *46*, 501–513.

Hughson, A.L., and Boakes, R.A. (2002). The knowing nose: the role of knowledge in wine expertise. Food Quality and Preference *13*, 463–472.

Hysert, D.W., Morrison, N.M., and Weaver, R.L. (1979). Dimethyl Sulfide Precursor in Beer. Journal of the American Society of Brewing Chemists *37*, 169–174.

J

Jackson, R. (2016a). 11 - Shelf Life of Wine. In The Stability and Shelf Life of Food (Second Edition), P. Subramaniam, ed. (Woodhead Publishing), pp. 311–346.

Jackson, R.S. (2014). Wine Science: Principles and Applications (Amsterdam: Academic Press Inc).

Jackson, R.S. (2016b). Wine Tasting: A Professional Handbook (Academic Press).

Jackson, D.I., and Lombard, P.B. (1993). Environmental and Management Practices Affecting Grape Composition and Wine Quality - A Review. American Journal of Enology and Viticulture *44*, 409–430.

Jaffré, J., Valentin, D., Meunier, J.-M., Siliani, A., Bertuccioli, M., and Le Fur, Y. (2011). The Chardonnay wine olfactory concept revisited: A stable core of volatile compounds, and fuzzy boundaries. Food Research International *44*, 456–464.

Janusz, A., Capone, D.L., Puglisi, C.J., Perkins, M.V., Elsey, G.M., and Sefton, M.A. (2003). (E)-1-(2,3,6-Trimethylphenyl)buta-1,3-diene: A Potent Grape-Derived Odorant in Wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry *51*, 7759–7763.

Jarauta, I., Cacho, J., and Ferreira, V. (2005). Concurrent Phenomena Contributing to the Formation of the Aroma of Wine during Aging in Oak Wood: An Analytical Study. Journal of Agricultural and Food Chemistry *53*, 4166–4177.

Jesús Ibarz, M., Ferreira, V., Hernández-Orte, P., Loscos, N., and Cacho, J. (2006). Optimization and evaluation of a procedure for the gas chromatographic–mass spectrometric analysis of the aromas generated by fast acid hydrolysis of flavor precursors extracted from grapes. Journal of Chromatography A *1116*, 217–229.

Jones, G.V., and Davis, R.E. (2000). Climate Influences on Grapevine Phenology, Grape Composition, and Wine Production and Quality for Bordeaux, France. American Journal of Enology and Viticulture *51*, 249–261.

Jordão, A.M., Ricardo-da-Silva, J.M., Laureano, O., Adams, A., Demyttenaere, J., Verhé, R., and De Kimpe, N. (2006). Volatile composition analysis by solid-phase microextraction applied to oak wood used in cooperage (Quercus pyrenaica and Quercus petraea): effect of botanical species and toasting process. Journal of Wood Science *52*, 514–521.

Jung, D.-M., and Ebeler, S.E. (2003). Headspace Solid-Phase Microextraction Method for the Study of the Volatility of Selected Flavor Compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry *51*, 200–205.

Jung, D.-M., de Ropp, J.S., and Ebeler, S.E. (2000). Study of Interactions between Food Phenolics and Aromatic Flavors Using One- and Two-Dimensional 1H NMR Spectroscopy. Journal of Agricultural and Food Chemistry *48*, 407–412.

K

Kahn, N. (2000). Rôle du bouchon de liège sur le vieillissement des vins en bouteille : études de l'apport du liège et des phénomènes oxydatifs. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

Keller, M.D., Bellows, W.K., and Guillard, R.R.L. (1989). Dimethyl Sulfide Production in Marine Phytoplankton. In Biogenic Sulfur in the Environment, (American Chemical Society), pp. 167–182.

Kennedy, J.A. (2008). Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. Ciencia e Investigación Agraria *35*.

Khor, G.K., and Uzir, M.H. (2011). Saccharomyces cerevisiae: a potential stereospecific reduction tool for biotransformation of mono- and sesquiterpenoids. Yeast *28*, 93–107.

Kim, B.-H., and Park, S.K. (2017). Enhancement of volatile aromatic compounds in black raspberry wines via enzymatic treatment. Journal of the Institute of Brewing *123*, 277–283.

Kotseridis, Y., Baumes, R.L., Bertrand, A., and Skouroumounis, G.K. (1999). Quantitative determination of β-ionone in red wines and grapes of Bordeaux using a stable isotope dilution assay. Journal of Chromatography A *848*, 317–325.

Koyama, K., Goto-Yamamoto, N., and Hashizume, K. (2007). Influence of Maceration Temperature in Red Wine Vinification on Extraction of Phenolics from Berry Skins and Seeds of Grape (Vitis vinifera). Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry *71*, 958–965.

Kroh, W.L. (1994). Caramelisation in food and beverages. Food Chemistry *51*, 373–379.

Kwasniewski, M.T., Vanden Heuvel, J.E., Pan, B.S., and Sacks, G.L. (2010). Timing of Cluster Light Environment Manipulation during Grape Development Affects C13 Norisoprenoid and Carotenoid Concentrations in Riesling. Journal of Agricultural and Food Chemistry *58*, 6841–6849.

L

La Guerche, S., Chamont, S., Blancard, D., Dubourdieu, D., and Darriet, P. (2005). Origin of (−)-Geosmin on Grapes: On the Complementary Action of Two Fungi, Botrytis Cinerea and Penicillium Expansum. Antonie Van Leeuwenhoek *88*, 131–139.

Lafon-Lafourcade, S., Geneix, C., and Ribéreau-Gayon, P. (1984). Les modalités de mise en oeuvre des écorces de levure en vinification. OENO One *18*, 111–125.

Langen, J., Wang, C.-Y., Slabizki, P., Wall, K., and Schmarr, H.-G. (2013). Quantitative analysis of γ- and δ-lactones in wines using gas chromatography with selective tandem mass spectrometric detection. Rapid Communications in Mass Spectrometry *27*, 2751–2759.

Langlois, J. (2010). Les expertises dans le domaine du vin : cas du concept de vin de garde. Thèse de Doctorat. Université de Bourgogne.

Langlois, J., Ballester, J., Campo, E., Dacremont, C., and Peyron, D. (2010). Combining Olfactory and Gustatory Clues in the Judgment of Aging Potential of Red Wine by Wine Professionals. American Journal of Enology and Viticulture *61*, 15–22.

Langlois, J., Dacremont, C., Peyron, D., Valentin, D., and Dubois, D. (2011). Lexicon and types of discourse in wine expertise: The case of vin de garde. Food Quality and Preference *22*, 491–498.

Larue, F., Geneix, C., Lafon-Lafourcade, S., Bertrand, A., and Ribéreau-Gayon, P. (1984). Premières observations sur le mode d'action des écorces de levure. OENO One *18*, 155–163.

Lawless, H.T., and Heymann, H. (2010). Descriptive Analysis. In Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices, H.T. Lawless, and H. Heymann, eds. (New York, NY: Springer), pp. 227–257.

Le Fur, Y. (1998). Contribution à la connaissance aromatique des vins de Chardonnay de Bourgogne : étude des potentialités olfactives de quatre composés volatils, le cinnamate d'éthyle, le guaiacol, le cyclotène et le maltol. Thèse de Doctorat. Université de Bourgogne.

Le Fur, Y. (2010). Est-il possible de définir des espaces sensoriels détachés de toute subjectivité culturelle ? (9e matinée des Œnologues - Bordeaux).

Le Menn, N. (2018). Etude chimique et sensorielle du vieillissement des vins de réserve de Champagne. Thèse de Doctorat. Reims Champagne-Ardenne.

Le Menn, N., van Leeuwen, C., Picard, M., Riquier, L., de Revel, G., and Marchand, S. (2019). Effect of Vine Water and Nitrogen Status, as Well as Temperature, on Some Aroma Compounds of Aged Red Bordeaux Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry *67*, 7098–7109.

Le Menn, N., Marchal, R., Demarville, D., Tempère, S., Campbell Sills, H., de Reve;, G., and Marchand, S. Predicting the ageing potential of Champagne reserve wines, development of a new tool for sensorial analysis. Soumise.

Le Robert typicité - Définitions, synonymes, conjugaison, exemples | Dico en ligne Le Robert.

Le Roux, R., Neethling, E., Van Leeuwen, C., De Resseguier, L., Madelin, M., Bonnefoy, C., Barbeau, G., and Quenol, H. (2015). Multi-scalar Modelling of Climate Applied to European Vineyard Sites in the Climate Change Context. Procedia Environmental Sciences *29*, 62–63.

L'école du vin de Bordeaux (2014). Le précis des vins de Bordeaux (Paris: La Martinière).

Li, H., Tao, Y.-S., Wang, H., and Zhang, L. (2008). Impact odorants of Chardonnay dry white wine from Changli County (China). European Food Research and Technology *227*, 287–292.

Lisanti, M.T., Laboyrie, J., Marchand-Marion, S., de Revel, G., Moio, L., Riquier, L., and Franc, C. (2021). Minty aroma compounds in red wine: development of a novel automated HS-SPME-Arrow and gas chromatography-tandem mass spectrometry quantification method. Food Chemistry (accepté).

Loison, A., Symoneaux, R., Deneulin, P., Thomas-Danguin, T., Fant, C., Guérin, L., and Le Fur, Y. (2015). Exemplarity measurement and estimation of the level of interjudge agreement for two categories of French red wines. Food Quality and Preference *40*, 240–251.

Lonvaud-Funel, A. (2010). Effects of malolactic fermentation on wine quality. In Managing Wine Quality: Oenology and Wine Quality, pp. 60–92.

Lonvaud-Funel, A. (2015). Lactic Acid Bacteria and Malolactic Fermentation in Wine. In Biotechnology of Lactic Acid Bacteria, (John Wiley & Sons, Ltd), pp. 231–247.

Lonvaud-Funel, A., Desens, C., and Joyeux, A. (1985). Stimulation de la fermentation malolactique par l'addition au vin d'enveloppes cellulaires de levure et différents adjuvants de nature polysaccharidique et azotée. OENO One *19*, 229–240.

Lopes, P., Saucier, C., Teissedre, P.-L., and Glories, Y. (2006). Impact of Storage Position on Oxygen Ingress through Different Closures into Wine Bottles. Journal of Agricultural and Food Chemistry *54*, 6741–6746.

Lopes, P., Saucier, C., Teissedre, P.-L., and Glories, Y. (2007). Main Routes of Oxygen Ingress through Different Closures into Wine Bottles. Journal of Agricultural and Food Chemistry *55*, 5167–5170.

Lopez, A.S., and Quesnel, V.C. (1976). Methyl-S-methionine sulphonium salt: A precursor of dimethyl sulphide in cacao. Journal of the Science of Food and Agriculture *27*, 85–88.

Lorrain, B., Tempere, S., Iturmendi, N., Moine, V., de Revel, G., and Teissedre, P.-L. (2013). Influence of phenolic compounds on the sensorial perception and volatility of red wine esters in model solution: An insight at the molecular level. Food Chemistry *140*, 76–82.

Loscos, N., Ségurel, M., Dagan, L., Sommerer, N., Marlin, T., and Baumes, R. (2008). Identification of S-methylmethionine in Petit Manseng grapes as dimethyl sulphide precursor in wine. Analytica Chimica Acta *621*, 24–29.

Loscos, N., Hernández-Orte, P., Cacho, J., and Ferreira, V. (2010). Evolution of the aroma composition of wines supplemented with grape flavour precursors from different varietals during accelerated wine ageing. Food Chemistry *120*, 205–216.

Lund, S.T., and Bohlmann, J. (2006). The Molecular Basis for Wine Grape Quality-A Volatile Subject. Science *311*, 804–805.

Lund, C.M., Nicolau, L., Gardner, R.C., and Kilmartin, P.A. (2009). Effect of polyphenols on the perception of key aroma compounds from Sauvignon Blanc wine. Australian Journal of Grape and Wine Research *15*, 18–26.

Lytra, G. (2012). Importance des interactions perceptives dans l'expression de l'arôme fruité typique des vins rouges. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

Lytra, G., Tempere, S., Revel, G. de, and Barbe, J.-C. (2012a). Impact of Perceptive Interactions on Red Wine Fruity Aroma. Journal of Agricultural and Food Chemistry *60*, 12260–12269.

Lytra, G., Tempere, S., de Revel, G., and Barbe, J.-C. (2012b). Distribution and Organoleptic Impact of Ethyl 2-Hydroxy-4-methylpentanoate Enantiomers in Wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry *60*, 1503–1509.

Lytra, G., Tempere, S., Le Floch, A., de Revel, G., and Barbe, J.-C. (2013). Study of Sensory Interactions among Red Wine Fruity Esters in a Model Solution. Journal of Agricultural and Food Chemistry *61*, 8504–8513.

Lytra, G., Tempere, S., de Revel, G., and Barbe, J.-C. (2014a). Distribution and Organoleptic Impact of Ethyl 2-Methylbutanoate Enantiomers in Wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry *62*, 5005–5010.

Lytra, G., Tempere, S., Zhang, S., Marchand, S., Revel, G. de, and Barbe, J.-C. (2014b). Olfactory impact of dimethyl sulfide on red wine fruity esters aroma expression in model solution. OENO One *48*, 75–85.

Lytra, G., Cameleyre, M., Tempere, S., and Barbe, J.-C. (2015). Distribution and Organoleptic Impact of Ethyl 3-Hydroxybutanoate Enantiomers in Wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry *63*, 10484–10491.

Lytra, G., Tempere, S., Marchand, S., de Revel, G., and Barbe, J.-C. (2016). How do esters and dimethyl sulphide concentrations affect fruity aroma perception of red wine? Demonstration by dynamic sensory profile evaluation. Food Chemistry *194*, 196–200.

Lytra, G., Franc, C., Cameleyre, M., and Barbe, J.-C. (2017). Study of Substituted Ester Formation in Red Wine by the Development of a New Method for Quantitative Determination and Enantiomeric Separation of Their Corresponding Acids. Journal of Agricultural and Food Chemistry *65*, 5018–5025.

M

Maarse, H., and Vischer, C.A. (1989). Volatile Compounds in Food Alcoholic Beverages. Qualitative and Quantitative Data. TNO-CIVO *Food Analysis Institute*, Zeist, The Netherlands.

Maga, J.A. (2018). Smoke in Food Processing (CRC Press).

Mahmoud, S.S., and Croteau, R.B. (2003). Menthofuran regulates essential oil biosynthesis in peppermint by controlling a downstream monoterpene reductase. Proceedings of the National Academy of Sciences *100*, 14481–14486.

Marais, J. (1979). Effect of storage time and temperature on the formation of dimethyl sulphide and on white wine quality. Vitis 254–260.

Marais, J., Van Wyk, C.J., and Rapp, A. (1992). Effect of sunlight and shade on norisoprenoid levels in maturing weisser riesling and chenin blanc grapes and weisser riesling wines. South African Journal of Enology and Viticulture *13*, 23–32.

Marchal, A. (2010). Recherches sur les bases moléculaires de la saveur sucrée des vins secs : approches analytique et sensorielle. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

Marchal, A., Marullo, P., Moine, V., and Dubourdieu, D. (2011). Influence of Yeast Macromolecules on Sweetness in Dry Wines: Role of the Saccharomyces cerevisiae Protein Hsp12. Journal of Agricultural and Food Chemistry *59*, 2004–2010.

Marchal, A., Pons, A., Lavigne, V., and Dubourdieu, D. (2013). Contribution of oak wood ageing to the sweet perception of dry wines. Australian Journal of Grape and Wine Research *19*, 11–19.

Marchal, A., Cretin, B.N., Sindt, L., Waffo-Téguo, P., and Dubourdieu, D. (2015). Contribution of oak lignans to wine taste: chemical identification, sensory characterization and quantification. Tetrahedron *71*, 3148–3156.

Marchand, S. (2002). Formation d'hétérocycles aromatiques des vins à partir de la cystéine et des composés carbonyles. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

Marchand, S., de Revel, G., and Bertrand, A. (2000). Approaches to Wine Aroma: Release of Aroma Compounds from Reactions between Cysteine and Carbonyl Compounds in Wine. J. Agric. Food Chem. *48*, 4890–4895.

Marchand, S., Almy, J., and Revel, G. de (2011). The Cysteine Reaction with Diacetyl under Wine-Like Conditions: Proposed Mechanisms for Mixed Origins of 2-Methylthiazole, 2-Methyl-3-thiazoline, 2-Methylthiazolidine, and 2,4,5-Trimethyloxazole. Journal of Food Science *76*, C861–C868.

Martin, N., and de Revel, G. (1999). Evaluation sensorielle : Bases scientifiques et applications oenologiques. Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin *33*, 85–98.

Martin, J., Macchi, P., Hoffman, M., and Maincent, P. (1994). Etude des mécanismes de fixation des principes actifs sur les nanoparticules de polyalkylcyanoacrylate. Journal de Pharmacie de Belgique *49*, 498–508.

Marullo, P., Bely, M., Masneuf-Pomarède, I., Pons, M., Aigle, M., and Dubourdieu, D. (2006). Breeding strategies for combining fermentative qualities and reducing off-flavor production in a wine yeast model. FEMS Yeast Res *6*, 268–279.

Masneuf, I., and Dubourdieu, D. (1999). L'azote assimilable : Intérêt de son dosage par titration avec le formol - Etudes de quelques paramètres à l'origine des variations de sa teneur dans les moûts. Revue Des Oenologues 31–33.

Masson, E., Baumes, R., Le Guernevé, C., and Puech, J.-L. (2000). Identification of a Precursor of β-Methyl-γ-octalactone in the Wood of Sessile Oak (Quercus petraea (Matt.) Liebl.). Journal of Agricultural and Food Chemistry *48*, 4306–4309.

Mateo, J.J., and Jiménez, M. (2000). Monoterpenes in grape juice and wines. Journal of Chromatography A *881*, 557–567.

Maujean, A., Haye, M., Feuillat, M., Thomas, J.C., and Petit, D. (1978). Contribution à l'étude des « goûts de lumière » dans le vin de champagne. II. Influence de la lumière sur le potentiel d'oxydoreduction. Corrélation avec la teneur en thiols du vin. OENO One *12*, 277–290.

McCloskey, L.P., Sylvan, M., and Arrhenius, S.P. (1996). Descriptive Analysis for Wine Quality Experts Determining Appellations by Chardonnay Wine Aroma. Journal of Sensory Studies *11*, 49–67.

McGraw, G.W., Hemingway, R.W., Ingram, Leonard L., Canady, C.S., and McGraw, W.B. (1999). Thermal Degradation of Terpenes: Camphene, Δ3-Carene, Limonene, and α-Terpinene. Environmental Science & Technology *33*, 4029–4033.

McKay, M., and Buica, A. (2020). Factors Influencing Olfactory Perception of Selected Off-flavourcausing Compounds in Red Wine - A Review. South African Journal of Enology and Viticulture *41*, 56–71.

Mendes-Pinto, M.M. (2009). Carotenoid breakdown products the—norisoprenoids—in wine aroma. Archives of Biochemistry and Biophysics *483*, 236–245.

Merida, J., Moyano, L., Millan, C., and Medina, M. (1991). Extraction of phenolic compounds in controlled macerations of Pedro Ximenez grapes. Vitis *30*, 117–117.

Mervis, C.B., and Rosch, E. (1981). Categorization of natural objects. Annual Review of Psychology *32*, 89–115.

Mestres, M., Busto, O., and Guasch, J. (2000a). Analysis of organic sulfur compounds in wine aroma. Journal of Chromatography A *881*, 569–581.

Mestres, M., Busto, O., and Guasch, J. (2000b). Analysis of organic sulfur compounds in wine aroma. Journal of Chromatography A *881*, 569–581.

Michel, J., Albertin, W., Jourdes, M., Le Floch, A., Giordanengo, T., Mourey, N., and Teissedre, P.-L. (2016). Variations in oxygen and ellagitannins, and organoleptic properties of red wine aged in French oak barrels classified by a near infrared system. Food Chemistry *204*, 381–390.

Moio, L., Schlich, P., Issanchou, S., Etievant, P.X., and Feuillat, M. (1993). Description de la typicité aromatique de vins de Bourgogne issus du Cépage Chardonnay. OENO One *27*, 179–189.

de Mora, S.J., Eschenbruch, R., Knowles, S.J., and Spedding, D.J. (1986). The formation of dimethyl sulphide during fermentation using a wine yeast. Food Microbiology *3*, 27–32.

de Mora, S.J., Knowles, S.J., Eschenbruch, R., and Torrey, W.J. (1987). Dimethyl sulphide in some Australian red wines. Vitis 79–84.

de Mora, S.J. de, Lee, P., Shooter, D., and Eschenbruch, R. (1993). The Analysis and Importance of Dimethylsulfoxide in Wine. American Journal of Enology and Viticulture *44*, 327–332.

Morales, M.L., Ochoa, M., Valdivia, M., Ubeda, C., Romero-Sanchez, S., Ibeas, J.I., and Valero, E. (2020). Volatile metabolites produced by different flor yeast strains during wine biological ageing. Food Research International *128*, 108771.

Moreno, J.A., Zea, L., Moyano, L., and Medina, M. (2005). Aroma compounds as markers of the changes in sherry wines subjected to biological ageing. Food Control *16*, 333–338.

Morisaki, A., Yamada, N., Yamanaka, S., and Matsui, K. (2014). Dimethyl Sulfide as a Source of the Seaweed-like Aroma in Cooked Soybeans and Correlation with Its Precursor, S-Methylmethionine (Vitamin U). Journal of Agricultural and Food Chemistry *62*, 8289–8294.

Morlat, R. (1989). Le terroir viticole : contribution à l'étude de sa caractérisation et de son influence sur les vins : application aux vignobles rouges de moyenne vallée de la Loire. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

Morlat, R., Barbeau, G., Asselin, C., and Besnard, E. (2001). Terroir Viticole: de la recherche à la valorisation par le vigneron. Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin *35*, 21–34.

Mosedale, J.R., Feuillat, F., Baumes, R., Dupouey, J.-L., and Puech, J.-L. (1998). Variability of wood extractives among *Quercus robur* and *Quercus petraea* trees from mixed stands and their relation to wood anatomy and leaf morphology. Canadian Journal of Forest Research *28*, 994–1006.

Mosedale, J.R., Puech, J.-L., and Feuillat, F. (1999). The Influence on Wine Flavor of the Oak Species and Natural Variation of Heartwood Components. American Journal of Enology and Viticulture *50*, 503–512.

Mozzon, M., Savini, S., Boselli, E., and Thorngate, J.H. (2016). The herbaceous character of wines. Italian Journal of Food Science *28*, 190–207.

Mudd, S.H., and Datko, A.H. (1990). The S-Methylmethionine Cycle in Lemna paucicostata. Plant Physiology *93*, 623–630.

N

Nikolantonaki, M., Chichuc, I., Teissedre, P.-L., and Darriet, P. (2010). Reactivity of volatile thiols with polyphenols in a wine-model medium: Impact of oxygen, iron, and sulfur dioxide. Analytica Chimica Acta *660*, 102–109.

Nikolantonaki, M., Jourdes, M., Shinoda, K., Teissedre, P.-L., Quideau, S., and Darriet, P. (2012). Identification of adducts between an odoriferous volatile thiol and oxidized grape phenolic compounds: Kinetic study of adduct formation under chemical and enzymatic oxidation conditions. Journal of Agricultural and Food Chemistry *60*, 2647–2656.

Nonier, M.F., Vivas, N., Vivas de Gaulejac, N., Absalon, C., Soulié, Ph., and Fouquet, E. (2006). Pyrolysis–gas chromatography/mass spectrometry of Quercus sp. wood: Application to structural elucidation of macromolecules and aromatic profiles of different species. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis *75*, 181–193.

O

OIV (2010). L'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin.

Ojeda, H., Andary, C., Kraeva, E., Carbonneau, A., and Deloire, A. (2002). Influence of Pre- and Postveraison Water Deficit on Synthesis and Concentration of Skin Phenolic Compounds during Berry Growth of Vitis vinifera cv. Shiraz. American Journal of Enology and Viticulture *53*, 261–267.

Oliveira, J.M., Araújo, I.M., Pereira, Ó.M., Maia, J.S., Amaral, A.J., and Odete Maia, M. (2004). Characterization and differentiation of five "Vinhos Verdes" grape varieties on the basis of monoterpenic compounds. Analytica Chimica Acta *513*, 269–275.

Ollat, N., and Touzard, J.-M. (2014). Stress hydrique et adaptation au changement climatique pour la viticulture et l'oenologie: le projet LACCAVE. 12.

Ollat, N., Van Leeuwen, C., Garcia de Cortazar-Atauri, I., and Touzard, J.-M. (2017). The challenging issue of climate change for sustainable grape and wine production. OENO One *51*, 59–60.

Ollé, D., Guiraud, J.L., Souquet, J.M., Terrier, N., Ageorges, A., Cheynier, V., and Verries, C. (2011). Effect of pre- and post-veraison water deficit on proanthocyanidin and anthocyanin accumulation during Shiraz berry development. Australian Journal of Grape and Wine Research *17*, 90–100.

Ortega-Heras, M., González-Sanjosé, M.L., and González-Huerta, C. (2007). Consideration of the influence of aging process, type of wine and oenological classic parameters on the levels of wood volatile compounds present in red wines. Food Chemistry *103*, 1434–1448.

P

Panighel, A., Maoz, I., De Rosso, M., De Marchi, F., Dalla Vedova, A., Gardiman, M., Bavaresco, L., and Flamini, R. (2014). Identification of saffron aroma compound β-isophorone (3,5,5-trimethyl-3-cyclohexen-1-one) in some V. vinifera grape varieties. Food Chemistry *145*, 186–190.

Paravisini, L., Prot, A., Gouttefangeas, C., Moretton, C., Nigay, H., Dacremont, C., and Guichard, E. (2015). Characterisation of the volatile fraction of aromatic caramel using heart-cutting multidimensional gas chromatography. Food Chemistry *167*, 281–289.

Parker, M., Capone, D.L., Francis, I.L., and Herderich, M.J. (2018). Aroma Precursors in Grapes and Wine: Flavor Release during Wine Production and Consumption. Journal of Agricultural and Food Chemistry *66*, 2281–2286.

Parr, W.V., Heatherbell, D., and White, K.G. (2002). Demystifying Wine Expertise: Olfactory Threshold, Perceptual Skill and Semantic Memory in Expert and Novice Wine Judges. Chemical Senses *27*, 747–755.

Parr, W.V., White, K.G., and Heatherbell, D.A. (2004). Exploring the nature of wine expertise: what underlies wine experts' olfactory recognition memory advantage? Food Quality and Preference *15*, 411–420.

Parr, W.V., Green, J.A., White, K.G., and Sherlock, R.R. (2007). The distinctive flavour of New Zealand Sauvignon blanc: Sensory characterisation by wine professionals. Food Quality and Preference *18*, 849–861.

Parr, W.V., Mouret, M., Blackmore, S., Pelquest-Hunt, T., and Urdapilleta, I. (2011). Representation of complexity in wine: Influence of expertise. Food Quality and Preference *22*, 647–660.

Patrignani, M., Fagúndez, G.A., Tananaki, C., Thrasyvoulou, A., and Lupano, C.E. (2018). Volatile compounds of Argentinean honeys: Correlation with floral and geographical origin. Food Chemistry *246*, 32–40.

Peaper, D.R., and Jones, H.L. (1994). Determination of S-Methylmethionine in Malt by Alkaline Hydrolysis and Headspace Gas Chromatography - a Collaborative Trial. Journal of the Institute of Brewing *100*, 397–398.

Penninckx, M.J. (2002). An overview on glutathione in *Saccharomyces* versus non-conventional yeasts. FEMS Yeast Research *2*, 295–305.

Perestrelo, R., and Câmara, J.S. (2020). Chemical/Instrumental Approaches to the Evaluation of Wine Chemistry. Molecules *25*, 1363.

Pérez-Coello, M.S., and Díaz-Maroto, M.C. (2009). Volatile Compounds and Wine Aging. In Wine Chemistry and Biochemistry, M.V. Moreno-Arribas, and M.C. Polo, eds. (New York, NY: Springer), pp. 295–311.

Pérez-Coello, M.S., González-Viñas, M.A., García-Romero, E., Díaz-Maroto, M.C., and Cabezudo, M.D. (2003). Influence of storage temperature on the volatile compounds of young white wines. Food Control *14*, 301–306.

Pérez-Prieto, L.J., López-Roca, J.M., Martínez-Cutillas, A., Pardo Mínguez, F., and Gómez-Plaza, E. (2002). Maturing Wines in Oak Barrels. Effects of Origin, Volume, and Age of the Barrel on the Wine Volatile Composition. Journal of Agricultural and Food Chemistry *50*, 3272–3276.

Pérez-Prieto, L.J., López-Roca, J.M., Martínez-Cutillas, A., Pardo-Mínguez, F., and Gómez-Plaza, E. (2003). Extraction and Formation Dynamic of Oak-Related Volatile Compounds from Different Volume Barrels to Wine and Their Behavior during Bottle Storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry *51*, 5444–5449.

Peynaud, E. (1980). Le goût du vin. In Le Grand Livre de La Dégustation, (Dunod), p. 239.

Peynaud, E. (2012). Le vin et les jours (Dunod).

Peynaud, E., and Blouin, J. (2013). Le goût du vin - 5e éd: Le grand livre de la dégustation (Dunod).

Peyrot des gachons, C., Van Leeuwen, C., Tominaga, T., Soyer, J.-P., Gaudillère, J.-P., and Dubourdieu, D. (2005). Influence of water and nitrogen deficit on fruit ripening and aroma potential of Vitis vinifera L cv Sauvignon blanc in field conditions. Journal of the Science of Food and Agriculture *85*, 73–85.

Picard, M. (2015). Recherches sur le bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux : Etudes sensorielle et moléculaire d'un concept olfactif complexe. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux.

Picard, M., Tempere, S., de Revel, G., and Marchand, S. (2015a). A sensory study of the ageing bouquet of red Bordeaux wines: A three-step approach for exploring a complex olfactory concept. Food Quality and Preference *42*, 110–122.

Picard, M., Thibon, C., Redon, P., Darriet, P., de Revel, G., and Marchand, S. (2015b). Involvement of Dimethyl Sulfide and Several Polyfunctional Thiols in the Aromatic Expression of the Aging Bouquet of Red Bordeaux Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry *63*, 8879–8889.

Picard, M., Lytra, G., Tempere, S., Barbe, J.-C., de Revel, G., and Marchand, S. (2016a). Identification of Piperitone as an Aroma Compound Contributing to the Positive Mint Nuances Perceived in Aged Red Bordeaux Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry *64*, 451–460.

Picard, M., Tempere, S., de Revel, G., and Marchand, S. (2016b). Piperitone Profiling in Fine Red Bordeaux Wines: Geographical Influences in the Bordeaux Region and Enantiomeric Distribution. Journal of Agricultural and Food Chemistry *64*, 7576–7584.

Picard, M., de Revel, G., and Marchand, S. (2017a). First identification of three p-menthane lactones and their potential precursor, menthofuran, in red wines. Food Chemistry *217*, 294–302.

Picard, M., Van Leeuwen, C., Guyon, F., Gaillard, L., de Revel, G., and Marchand, S. (2017b). Vine Water Deficit Impacts Aging Bouquet in Fine Red Bordeaux Wine. Front. Chem. *5*, 1–8.

Picard, M., Franc, C., de Revel, G., and Marchand, S. (2018). Dual solid-phase and stir bar sorptive extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry analysis provides a suitable tool for assaying limonene-derived mint aroma compounds in red wine. Analytica Chimica Acta *1001*, 168–178.

Pineau, B. (2007). Contribution à l'étude de l'arôme fruité spécifique des vins rouges de Vitis vinifera L. Cv. Merlot noir et Cabernet-Sauvignon. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

Pineau, B., Barbe, J.-C., Van Leeuwen, C., and Dubourdieu, D. (2007). Which Impact for β-Damascenone on Red Wines Aroma? Journal of Agricultural and Food Chemistry *55*, 4103–4108.

Pineau, B., Barbe, J.-C., Van Leeuwen, C., and Dubourdieu, D. (2009). Examples of Perceptive Interactions Involved in Specific "Red-" and "Black-berry" Aromas in Red Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry *57*, 3702–3708.

Pineau, B., Barbe, J.-C., Van Leeuwen, C., and Dubourdieu, D. (2010). Olfactory specificity of red- and black-berry fruit aromas in red wines and contribution to the red Bordeaux wine concept. OENO One *44*, 39–49.

Pineau, B., Trought, M.C.T., Stronge, K., Beresford, M.K., Wohlers, M.W., and Jaeger, S.R. (2011). Influence of fruit ripeness and juice chaptalisation on the sensory properties and degree of typicality expressed by Sauvignon Blanc wines from Marlborough, New Zealand. Australian Journal of Grape and Wine Research *17*, 358–367.

Plank, C.M., Hellman, E.W., and Montague, T. (2019). Light and Temperature Independently Influence Methoxypyrazine Content of Vitis vinifera (cv. Cabernet Sauvignon) Berries. HortScience *54*, 282–288.

Pogorzelski, E., and Wilkowska, A. (2007). Flavour enhancement through the enzymatic hydrolysis of glycosidic aroma precursors in juices and wine beverages: a review. Flavour and Fragrance Journal *22*, 251–254.

Poitou, X., Thibon, C., and Darriet, P. (2017). 1,8-Cineole in French Red Wines: Evidence for a Contribution Related to Its Various Origins. Journal of Agricultural and Food Chemistry *65*, 383–393.

Pollnitz, A.P., Jones, G.P., and Sefton, M.A. (1999). Determination of oak lactones in barrel-aged wines and in oak extracts by stable isotope dilution analysis. Journal of Chromatography A *857*, 239–246.

Pons, A., Lavigne, V., Eric, F., Darriet, P., and Dubourdieu, D. (2008). Identification of Volatile Compounds Responsible for Prune Aroma in Prematurely Aged Red Wines. J. Agric. Food Chem. *56*, 5285–5290.

Pons, A., Lavigne, V., Darriet, P., and Dubourdieu, D. (2013). Role of 3-Methyl-2,4-nonanedione in the Flavor of Aged Red Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry *61*, 7373–7380.

Pons, A., Lavigne, V., Darriet, P., and Dubourdieu, D. (2016). Identification and analysis of piperitone in red wines. Food Chemistry *206*, 191–196.

Pons, A., Allamy, L., Schüttler, A., Rauhut, D., Thibon, C., and Darriet, P. (2017). What is the expected impact of climate change on wine aroma compounds and their precursors in grape? OENO One *51*, 141–146.

Prida, A., and Chatonnet, P. (2010). Impact of Oak-Derived Compounds on the Olfactory Perception of Barrel-Aged Wines. American Journal of Enology and Viticulture *61*, 408–413.

Pripis-Nicolau, L., Revel, G. de, Marchand, S., Anocibar Beloqui, Á., and Bertrand, A. (2001). Automated HPLC method for the measurement of free amino acids including cysteine in musts and wines; first applications. Journal of the Science of Food and Agriculture *81*, 731–738.

Q

Qiu, Y. (2015). Phénomènes de transfert d'oxygène à travers la barrique. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux.

Quaglieri, C., Jourdes, M., Waffo-Teguo, P., and Teissedre, P.-L. (2017). Updated knowledge about pyranoanthocyanins: Impact of oxygen on their contents, and contribution in the winemaking process to overall wine color. Trends in Food Science & Technology *67*, 139–149.

R

Ramak, P., Osaloo, S.K., Sharifi, M., Ebrahimzadeh, H., and Behmanesh, M. (2014). Biosynthesis, regulation and properties of plant monoterpenoids. Journal of Medicinal Plants Research *8*, 983–991.

Ramey, D.D., and Ough, C.S. (1980). Volatile ester hydrolysis or formation during storage of model solutions and wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry *28*, 928–934.

Rankine, B.C., Fornachon, J.C.M., and Bridson, D.A. (1969). Diacetyl in Australian dry red wines and its significance in wine quality. Vitis *8*, 129–134.

Rapp, A., and Mandery, H. (1986). Wine aroma. Experientia *42*, 873–884.

Rapp, A., Pretorius, P., and Kugler, D. (1992). Foreign and Undesirable Flavours in Wine. In Developments in Food Science, G. Charalambous, ed. (Elsevier), pp. 485–522.

Razungles, A., Gunata, Z., Pinatel, S., Baumes, R., and Bayonove, C. (1993). Etude quantitative de composés terpéniques, norisoprénoïdes et de leurs précurseurs dans diverses variétés de raisins. Sci. Aliments *13*, 59–72.

Renouf, V., Trégoat, O., Roby, J.-P., and Van Leeuwen, C. (2010). Soils, rootstocks and grapevine varieties in prestigious Bordeaux vineyards and their impact on yield and quality. OENO One *44*, 127–134.

de Rességuier, L., Mary, S., Le Roux, R., Petitjean, T., Quénol, H., and van Leeuwen, C. (2020). Temperature Variability at Local Scale in the Bordeaux Area. Relations With Environmental Factors and Impact on Vine Phenology. Frontiers in Plant Science *11*.

de Revel, G. (1992). Le diacétyle, les composés dicarbonyles et leurs produits de réduction dans le vin. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

de Revel, G. (2002). Fermentation malolactique. Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin *36*, 7–16.

de Revel, G., Bloem, A., Augustin, M., Lonvaud-Funel, A., and Bertrand, A. (2005). Interaction of Œnococcus œni and oak wood compounds. Food Microbiology *22*, 569–575.

Ribéreau-Gayon, P., Boidron, J.N., and Terrier, A. (1975). Aroma of Muscat grape varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry *23*, 1042–1047.

Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., and Dubourdieu, D. (2012a). Traité d'oenologie - Tome 2 - 6e éd. - Chimie du vin. Stabilisation et traitements (Dunod).

Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., and Lonvaud, A. (2012b). Traité d'oenologie - Tome 1 - 6e éd. - Microbiologie du vin. Vinifications (Dunod).

Ringer, K.L., Davis, E.M., and Croteau, R. (2005). Monoterpene Metabolism. Cloning, Expression, and Characterization of (−)-Isopiperitenol/(−)-Carveol Dehydrogenase of Peppermint and Spearmint. Plant Physiology *137*, 863–872.

Robinson, A.L., Boss, P.K., Heymann, H., Solomon, P.S., and Trengove, R.D. (2011). Development of a sensitive non-targeted method for characterizing the wine volatile profile using headspace solid-phase microextraction comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry. Journal of Chromatography A *1218*, 504–517.

Robinson, A.L., Boss, P.K., Solomon, P.S., Trengove, R.D., Heymann, H., and Ebeler, S.E. (2014). Origins of Grape and Wine Aroma. Part 1. Chemical Components and Viticultural Impacts. American Journal of Enology and Viticulture *65*, 1–24.

Rodrigue Silva, H. (2016). "Minéralité des vins : parlons-en !" : la conceptualisation d'un descripteur sensoriel mal défini. Thèse de Doctorat. Université de Bourgogne.

Rodrigues, H., Ballester, J., Saenz-Navajas, M.P., and Valentin, D. (2015). Structural approach of social representation: Application to the concept of wine minerality in experts and consumers. Food Quality and Preference *46*, 166–172.

Romano, A., Perello, M.C., Lonvaud-Funel, A., Sicard, G., and de Revel, G. (2009). Sensory and analytical re-evaluation of "Brett character." Food Chemistry *114*, 15–19.

Rosch, E., and Mervis, C.B. (1975). Family resemblances: Studies in the internal structure of categories. Cognitive Psychology *7*, 573–605.

Rosenthal, H.E. (1967). A graphic method for the determination and presentation of binding parameters in a complex system. Analytical Biochemistry *20*, 525–532.

Roßmann, A., Schmidt, H.-L., Reniero, F., Versini, G., Moussa, I., and Merle, M.H. (1996). Stable carbon isotope content in ethanol of EC data bank wines from Italy, France and Germany. Z Lebensm Unters Forch *203*, 293–301.

Rottava, I., Cortina, P.F., Grando, C.E., Colla, A.R.S., Martello, E., Cansian, R.L., Toniazzo, G., Treichel, H., Antunes, O.A.C., Oestreicher, E.G., et al. (2010). Isolation and Screening of Microorganisms for R-(+)-Limonene and (−)-β-Pinene Biotransformation. Applied Biochemistry and Biotechnology *162*, 719–732.

Roudié, P. (2000). Vous avez dit «château» ? Essai sur le succès sémantique d'un modèle viticole venu du Bordelais//«Château» charm: the success of a viticultural model from the Bordelais. Annales de géographie *109*, 415–425.

Roudié, P. (2013). Vignobles et vignerons du bordelais (1850-1980) (Féret).

Rouillon, A., Surdin-Kerjan, Y., and Thomas, D. (1999). Transport of Sulfonium Compounds Characterization of the S-adenosylmethionine and S-methylmethionine permeases from the yeast Saccharomyces cerevisiae. Journal of Biological Chemistry *274*, 28096–28105.

Roujou de Boubée, D., Van Leeuwen, C., and Dubourdieu, D. (2000). Organoleptic Impact of 2-Methoxy-3-isobutylpyrazine on Red Bordeaux and Loire Wines. Effect of Environmental Conditions on Concentrations in Grapes during Ripening. Journal of Agricultural and Food Chemistry *48*, 4830–4834.

Rousseau, J. (2001). Évaluation par la degustation de l'état de maturité des raisins. Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin *35*, 211–214.

Roussis, I.G., Lambropoulos, I., and Tzimas, P. (2007). Protection of Volatiles in a Wine with Low Sulfur Dioxide by Caffeic Acid or Glutathione. American Journal of Enology and Viticulture *58*, 274–278.

de Royer Dupré, N., Schneider, R., Payan, J.C., Salançon, E., and Razungles, A. (2014). Effects of Vine Water Status on Dimethyl Sulfur Potential, Ammonium, and Amino Acid Contents in Grenache Noir Grapes (*Vitis vinifera*). Journal of Agricultural and Food Chemistry *62*, 2760–2766.

S

Sáenz-Navajas, M.-P., Campo, E., Culleré, L., Fernández-Zurbano, P., Valentin, D., and Ferreira, V. (2010). Effects of the Nonvolatile Matrix on the Aroma Perception of Wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry *58*, 5574–5585.

Sáenz-Navajas, M.-P., Fernández-Zurbano, P., and Ferreira, V. (2012). Contribution of Nonvolatile Composition to Wine Flavor. Food Reviews International *28*, 389–411.

Saerens, S.M.G., Verstrepen, K.J., Laere, S.D.M.V., Voet, A.R.D., Dijck, P.V., Delvaux, F.R., and Thevelein, J.M. (2006). The Saccharomyces cerevisiae EHT1 and EEB1 Genes Encode Novel Enzymes with Medium-chain Fatty Acid Ethyl Ester Synthesis and Hydrolysis Capacity. Journal of Biological Chemistry *281*, 4446–4456.

Saerens, S.M.G., Delvaux, F., Verstrepen, K.J., Dijck, P.V., Thevelein, J.M., and Delvaux, F.R. (2008). Parameters Affecting Ethyl Ester Production by Saccharomyces cerevisiae during Fermentation. Applied and Environmental Microbiology *74*, 454–461.

Salette, J. (1997). La typicité: une notion nouvelle au service du produit, de ceux qui l'élaborent, et de ceux qui le consomment en l'appréciant. Revue des oenologues et des techniques vitivinicoles et oenologiques: magazine trimestriel d'information professionnelle *24*, 11–13.

San-Juan, F., Ferreira, V., Cacho, J., and Escudero, A. (2011). Quality and Aromatic Sensory Descriptors (Mainly Fresh and Dry Fruit Character) of Spanish Red Wines can be Predicted from their Aroma-Active Chemical Composition. Journal of Agricultural and Food Chemistry *59*, 7916–7924.

Sarrazin, E. (2007). Recherches sur l'arôme des vins liquoreux de pourriture noble issus des cépages Sémillon et Sauvignon blanc : caractérisation de composés clés et étude de leur génèse. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux 2.

Sauvageot, F. (1994). Les sciences de l'aliment et le concept de typicité ou le chercheur e sciences de la nature a-t-il quelque chose à déclarer sur la typicité d'un produit alimentaire ?

Savoi, S., Wong, D.C.J., Arapitsas, P., Miculan, M., Bucchetti, B., Peterlunger, E., Fait, A., Mattivi, F., and Castellarin, S.D. (2016). Transcriptome and metabolite profiling reveals that prolonged drought modulates the phenylpropanoid and terpenoid pathway in white grapes (Vitis vinifera L.). BMC Plant Biology *16*, 67.

Scarlett, N.J., Bramley, R.G.V., and Siebert, T.E. (2014). Within-vineyard variation in the 'pepper' compound rotundone is spatially structured and related to variation in the land underlying the vineyard. Australian Journal of Grape and Wine Research *20*, 214–222.

Schreier, P., and Jennings, W.G. (1979). Flavor composition of wines: A review. C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition *12*, 59–111.

Schreier, P., Drawert, F., Junker, A., and Mick, W. (1977). The quantitative composition of natural and technologically changed aromas of plants. II. Aroma compounds in oranges and their changes during juice processing. Z Lebensm Unters Forsch *164*, 188–193.

Schulte-Elte, K.H., Gautschi, F., Renold, W., Hauser, A., Fankhauser, P., Limacher, J., and Ohloff, G. (1978). Vitispiranes, Important Constitutents of Vanilla Aroma. Helvetica Chimica Acta *61*, 1125–1133.

Schüttler, A. (2012). Influencing factors on aromatic typicality of wines from Vitis vinifera L. cv. Riesling – sensory, chemical and viticultural insights. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux.

Schüttler, A., Fritsch, S., Hoppe, J.E., Schüssler, C., and Jung, R. (2013). Facteurs influençant la typicité aromatique des vins du cépage de Vitis vinifera cv. Riesling: Aspects sensoriels, chimiques et viticoles. Revue des oenologues et des techniques vitivinicoles et oenologiques: magazine trimestriel d'information professionnelle *40*, 36–41.

Schüttler, A., Friedel, M., Jung, R., Rauhut, D., and Darriet, P. (2015). Characterizing aromatic typicality of Riesling wines: merging volatile compositional and sensory aspects. Food Research International *69*, 26–37.

Sefton, M.A. (1998). Hydrolytically-released volatile secondary metabolites from a juice sample of Vitis vinifera grape cvs Merlot and Cabernet Sauvignon. Australian Journal of Grape and Wine Research *4*, 30–38.

Sefton, M.A., and Williams, P.J. (1991). Generation of oxidation artifacts during the hydrolysis of norisoprenoid glycosides by fungal enzyme preparations. Journal of Agricultural and Food Chemistry *39*, 1994–1997.

Sefton, M.A., Francis, I.L., and Williams, P.J. (1993). The Volatile Composition of Chardonnay Juices: A Study by Flavor Precursor Analysis. Am J Enol Vitic. *44*, 359–370.

Sefton, M.A., Francis, I.L., and Williams, P.J. (1994). Free and Bound Volatile Secondary Metabolites of Vitis Vhifera Grape cv. Sauvignon Blanc. Journal of Food Science *59*, 142–147.

Segurel, M.A., Razungles, A.J., Riou, C., Salles, M., and Baumes, R.L. (2004). Contribution of Dimethyl Sulfide to the Aroma of Syrah and Grenache Noir Wines and Estimation of Its Potential in Grapes of These Varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry *52*, 7084–7093.

Segurel, M.A., Razungles, A.J., Riou, C., Trigueiro, M.G.L., and Baumes, R.L. (2005). Ability of Possible DMS Precursors To Release DMS during Wine Aging and in the Conditions of Heat-Alkaline Treatment. Journal of Agricultural and Food Chemistry *53*, 2637–2645.

Silva, M.A. (2011). Effet de l'obturateur sur l'évolution de la qualité sensorielle du vin. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux.

Silva, M.A., Julien, M., Jourdes, M., and Teissedre, P.-L. (2011). Impact of closures on wine post-bottling development: a review. Eur Food Res Technol *233*, 905–914.

Silva Ferreira, A.C., and Guedes de Pinho, P. (2004). Norisoprenoids profile during port wine ageing—influence of some technological parameters. Analytica Chimica Acta *513*, 169–176.

Silva Ferreira, A.C., Hogg, T., and Guedes de Pinho, P. (2003). Identification of Key Odorants Related to the Typical Aroma of Oxidation-Spoiled White Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry *51*, 1377–1381.

Simpson, R. (1978). 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphthalene: an important contributor to the bottle aged bouquet of wine. Chemistry and Industry *1*, 37–40.

Simpson, R.F. (1979). Aroma composition of bottle aged white wine. Vitis *18*, 148–154.

Simpson, R., and Miller, G. (1983). Aroma composition of aged riesling wine. Vitis *22*, 51–63.

Simpson, D., Winiwarter, W., Börjesson, G., Cinderby, S., Ferreiro, A., Guenther, A., Hewitt, C.N., Janson, R., Khalil, M.A.K., Owen, S., et al. (1999). Inventorying emissions from nature in Europe. Journal of Geophysical Research: Atmospheres *104*, 8113–8152.

Skinkis, P.A., Bordelon, B.P., and Wood, K.V. (2008). Comparison of Monoterpene Constituents in Traminette, Gewürztraminer, and Riesling Winegrapes. American Journal of Enology and Viticulture *59*, 440–445.

Skouroumounis, G.K., and Sefton, M.A. (2000). Acid-Catalyzed Hydrolysis of Alcohols and Their β-d-Glucopyranosides. J. Agric. Food Chem. *48*, 2033–2039.

Slaghenaufi, D. (2012). Contribution à la caractérisation des précurseurs d'arôme glycosylés du bois de chêne. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux.

Slaghenaufi, D., and Ugliano, M. (2018). Norisoprenoids, Sesquiterpenes and Terpenoids Content of Valpolicella Wines During Aging: Investigating Aroma Potential in Relationship to Evolution of Tobacco and Balsamic Aroma in Aged Wine. Frontiers in Chemistry *6*, 1–13.

Slaghenaufi, D., Marchand-Marion, S., Richard, T., Waffo-Teguo, P., Bisson, J., Monti, J.-P., Merillon, J.-M., and de Revel, G. (2013). Centrifugal partition chromatography applied to the isolation of oak wood aroma precursors. Food Chemistry *141*, 2238–2245.

Slaghenaufi, D., Perello, M.-C., Marchand-Marion, S., Tempere, S., and de Revel, G. (2014). Quantitative solid phase microextraction – Gas chromatography mass spectrometry analysis of five megastigmatrienone isomers in aged wine. Analytica Chimica Acta *813*, 63–69.

Slaghenaufi, D., Perello, M.-C., Marchand, S., and de Revel, G. (2016). Quantification of megastigmatrienone, a potential contributor to tobacco aroma in spirits. Food Chemistry *203*, 41–48.

Slaghenaufi, D., Guardini, S., Tedeschi, R., and Ugliano, M. (2019). Volatile terpenoids, norisoprenoids and benzenoids as markers of fine scale vineyard segmentation for Corvina grapes and wines. Food Research International *125*, 108507.

Slaghenaufi, D., Indorato, C., Troiano, E., Luzzini, G., Felis, G.E., and Ugliano, M. (2020). Fate of Grape-Derived Terpenoids in Model Systems Containing Active Yeast Cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry.

Smith, B.C. (2007). Questions of Taste: The Philosophy of Wine (Oxford University Press).

S**olomon, G.E.A. (1990).** Psychology of Novice and Expert Wine Talk. The American Journal of Psychology *103*, 495–517.

Spayd, S.E., Tarara, J.M., Mee, D.L., and Ferguson, J.C. (2002). Separation of Sunlight and Temperature Effects on the Composition of Vitis vinifera cv. Merlot Berries. American Journal of Enology and Viticulture *53*, 171–182.

Spedding, D.J., and Raut, P. (1982). The influence of dimethyl sulphide and carbon disulphide in the bouquet of wines. Vitis *21*, 240–246.

Spillman, P.J., Pollnitz, A.P., Liacopoulos, D., Skouroumounis, G.K., and Sefton, M.A. (1997). Accumulation of Vanillin during Barrel-Aging of White, Red, and Model Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry *45*, 2584–2589.

Spillman, P.J., Sefton, M.A., and Gawel, R. (2004). The contribution of volatile compounds derived during oak barrel maturation to the aroma of a Chardonnay and Cabernet Sauvignon wine. Australian Journal of Grape and Wine Research *10*, 227–235.

Spinnler, H.E., Berger, C., Lapadatescu, C., and Bonnarme, P. (2001). Production of sulfur compounds by several yeasts of technological interest for cheese ripening. International Dairy Journal *11*, 245–252.

Stamatopoulos, P., Frérot, E., Tempère, S., Pons, A., and Darriet, P. (2014). Identification of a New Lactone Contributing to Overripe Orange Aroma in Bordeaux Dessert Wines via Perceptual Interaction Phenomena. Journal of Agricultural and Food Chemistry *62*, 2469–2478.

Strauss, C.R., Wilson, B., Gooley, P.R., and Williams, P.J. (1986). Role of Monoterpenes in Grape and Wine Flavor. In Biogeneration of Aromas, (American Chemical Society), pp. 222–242.

Strauss, C.R., Wilson, B., and Williams, P.J. (1987). 3-oxo-α-ionol, vomifoliol and roseoside in Vitis vinifera fruit. Phytochemistry *26*, 1995–1997.

Styger, G., Prior, B., and Bauer, F.F. (2011). Wine flavor and aroma. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology *38*, 1145.

Subileau, M., Schneider, R., Salmon, J.-M., and Degryse, E. (2008). New Insights on 3-Mercaptohexanol (3MH) Biogenesis in Sauvignon Blanc Wines: Cys-3MH and (E)-Hexen-2-al Are Not the Major Precursors. Journal of Agricultural and Food Chemistry *56*, 9230–9235.

Sumby, K.M., Grbin, P.R., and Jiranek, V. (2010). Microbial modulation of aromatic esters in wine: Current knowledge and future prospects. Food Chemistry *121*, 1–16.

Sun, B.S., Pinto, T., Leandro, M.C., Ricardo-Da-Silva, J.M., and Spranger, M.I. (1999). Transfer of Catechins and Proanthocyanidins From Solid Parts of the Grape Cluster Into Wine. American Journal of Enology and Viticulture *50*, 179–184.

Swan, H.B. (2000). Determination of Existing and Potential Dimethyl Sulphide in Red Wines by Gas Chromatography Atomic Emission Spectroscopy. Journal of Food Composition and Analysis *13*, 207–217.

T

Takeoka, G.R., Buttery, R.G., Turnbaugh, J.G., and Benson, M. (1995). Odor thresholds of various branched esters. LWT - Food Science and Technology *28*, 153–156.

Takeuchi, H., Kato, H., and Kurahashi, T. (2013). 2,4,6-Trichloroanisole is a potent suppressor of olfactory signal transduction. PNAS *110*, 16235–16240.

Tamborra, P., and Esti, M. (2010). Authenticity markers in Aglianico, Uva di Troia, Negroamaro and Primitivo grapes. Analytica Chimica Acta *660*, 221–226.

Tarantilis, P.A., and Polissiou, M.G. (1997). Isolation and Identification of the Aroma Components from Saffron (Crocus sativus). Journal of Agricultural and Food Chemistry *45*, 459–462.

Tat, L., Comuzzo, P., Battistutta, F., and Zironi, R. (2007). Sweet-like Off-flavor in Aglianico del Vulture Wine: Ethyl Phenylacetate as the Mainly Involved Compound. Journal of Agricultural and Food Chemistry *55*, 5205–5212.

Tempere, S., Cuzange, E., Malak, J., Bougeant, J.C., de Revel, G., and Sicard, G. (2011). The Training Level of Experts Influences their Detection Thresholds for Key Wine Compounds. Chemosensory Perception *4*, 99.

Tempere, S., Hamtat, M.L., Bougeant, J.C., Revel, G. de, and Sicard, G. (2014). Learning Odors: The Impact of Visual and Olfactory Mental Imagery Training on Odor Perception. Journal of Sensory Studies *29*, 435–449.

Tempere, S., Hamtat, M.-L., Revel, G. de, and Sicard, G. (2016a). Comparison of the ability of wine experts and novices to identify odorant signals: a new insight in wine expertise. Australian Journal of Grape and Wine Research *22*, 190–196.

Tempere, S., Schaaper, M.H., Cuzange, E., de Lescar, R., de Revel, G., and Sicard, G. (2016b). The olfactory masking effect of ethylphenols: Characterization and elucidation of its origin. Food Quality and Preference *50*, 135–144.

Tempere, S., Schaaper, M.H., Cuzange, E., de Revel, G., and Sicard, G. (2017). Masking of Several Olfactory Notes by Infra-threshold Concentrations of 2,4,6-Trichloroanisole. Chemosensory Perception *10*, 69–80.

Thibaud, F., Courregelongue, M., and Darriet, P. (2020). Contribution of Volatile Odorous Terpenoid Compounds to Aged Cognac Spirits Aroma in a Context of Multicomponent Odor Mixtures. Journal of Agricultural and Food Chemistry.

Thibon, C., Pons, A., Mouakka, N., Redon, P., Méreau, R., and Darriet, P. (2015). Comparison of electron and chemical ionization modes for the quantification of thiols and oxidative compounds in white wines by gas chromatography–tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A *1415*, 123–133.

Tominaga, T., Darriet, P., and Dubourdieu, D. (1996). Identification de l'acétate de 3-mercaptohexanol, composé à forte odeur de buis, intervenant dans l'arôme des vins de Sauvignon. Vitis *35*, 207–210.

Tominaga, T., Furrer, A., Henry, R., and Dubourdieu, D. (1998). Identification of new volatile thiols in the aroma of Vitis vinifera L. var. Sauvignon blanc wines. Flavour and Fragrance Journal *13*, 159–162.

Tominaga, T., Blanchard, L., Darriet, P., and Dubourdieu, D. (2000). A Powerful Aromatic Volatile Thiol, 2-Furanmethanethiol, Exhibiting Roast Coffee Aroma in Wines Made from Several Vitis vinifera Grape Varieties. J. Agric. Food Chem. *48*, 1799–1802.

Tominaga, T., Guimbertau, G., and Dubourdieu, D. (2003). Role of Certain Volatile Thiols in the Bouquet of Aged Champagne Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry *51*, 1016–1020.

Towey, J.P., and Waterhouse, A.L. (1996). The Extraction of Volatile Compounds From French and American Oak Barrels in Chardonnay During Three Successive Vintages. American Journal of Enology and Viticulture *47*, 163–172.

Tregoat, O., Van Leeuwen, C., Choné, X., and Gaudillère, J.-P. (2002). Étude du régime hydrique et de la nutrition azotée de la vigne par des indicateurs physiologiques. Influence sur le comportement de la vigne et la maturation du raisin (Vitis vinifera L. cv Merlot, 2000, Bordeaux). Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin *36*, 133–142.

Tregoat, O., Choné, X., and Van Leeuwen, C. (2008). L'évaluation du régime hydrique de la vigne. Incidence sur son développement et sur la constitution du raisin. In Journée Technique Des Terroirs Viticoles, pp. 7–p.

Trossat, C., Nolte, K.D., and Hanson, A.D. (1996). Evidence That the Pathway of Dimethylsulfoniopropionate Biosynthesis Begins in the Cytosol and Ends in the Chloroplast. Plant Physiology *111*, 965–973.

Trujillo, M. (2018). Rôle des caractères génétiques de la levure Saccharomyces cerevisiae et de la composition de la vendange sur la production d'esters lors de la fermentation alcoolique : Effet des gènes codants pour les estérases et du niveau de maturité des raisins sur les caractéristiques chimiques et sensorielles des vins rouges. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux.

U

Ueda, Y., Imahori, Y., Yamanaka, H., Kwak, S., and Chachin, K. (1995). Dimethyl sulfide production in stored satsuma mandarin: the potential role of ferrous ion and ascorbate. Acta Horticulturae 297–304.

Ugliano, M. (2013). Oxygen Contribution to Wine Aroma Evolution during Bottle Aging. Journal of Agricultural and Food Chemistry *61*, 6125–6136.

Ugliano, M., Bartowsky, E.J., McCarthy, J., Moio, L., and Henschke, P.A. (2006). Hydrolysis and Transformation of Grape Glycosidically Bound Volatile Compounds during Fermentation with Three Saccharomyces Yeast Strains. J. Agric. Food Chem. *54*, 6322–6331.

Ugliano, M., Travis, B., Francis, I.L., and Henschke, P.A. (2010). Volatile Composition and Sensory Properties of Shiraz Wines As Affected by Nitrogen Supplementation and Yeast Species: Rationalizing Nitrogen Modulation of Wine Aroma. Journal of Agricultural and Food Chemistry *58*, 12417–12425.

Ugliano, M., Kwiatkowski, M., Vidal, S., Capone, D., Siebert, T., Dieval, J.-B., Aagaard, O., and Waters, E.J. (2011). 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.

Ugliano, M., Dieval, J.-B., Siebert, T.E., Kwiatkowski, M., Aagaard, O., Vidal, S., and Waters, E.J. (2012). 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.

Ulrich, D., Hoberg, E., Bittner, T., Engewald, W., and Meilchen, K. (2001). Contribution of volatile compounds to the flavor of cooked asparagus. European Food Research and Technology *213*, 200–204.

V

Valentin, D., Chollet, S., and Abdi, H. (2003). Les mots du vin : experts et novices diffèrent-ils quand ils décrivent des vins ? Corpus.

Van Leeuwen, C. (2001). Choix du cépage en fonction du terroir dans le Bordelais. Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin *35*, 97–102.

Van Leeuwen, C. (2009). Soils and Terroir Expression in Wines. In Soil and Culture, E.R. Landa, and C. Feller, eds. (Dordrecht: Springer Netherlands), pp. 453–465.

Van Leeuwen, C. (2010). Terroir: The effect of the physical environment on vine growth, grape ripening and wine sensory attributes. In Managing Wine Quality: Viticulture and Wine Quality, pp. 273–315.

Van Leeuwen, C., and Friant, P. (2011). Les méthodes d'estimation de l'alimentation azotée de la vigne et des raisins au vignoble : état de l'art. Colloque « L'azote : un élément clé en viticulture et en œnologie », Toulouse, FRA, 2011-12-08-2011-12-08.

Van Leeuwen, C., and Roby, J.-P. (2001). Choix du porte-greffe. Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin *35*, 61–66.

Van Leeuwen, C., and Seguin, G. (1994). Incidence de l'alimentation en eau de la vigne, appreciee par l'etat hydrique du feuillage, sur le developpement de l'appareil vegetatif et la maturation du raisin (Vitis vinifera) variété Cabernet franc, Saint-Emilion 1990). OENO One *28*, 81–110.

Van Leeuwen, C., and Seguin, G. (2006). The concept of terroir in viticulture. Journal of Wine Research *17*, 1–10.

Van Leeuwen, C., Lerich, O., Renard, R., Trégoat, O., and Alla, P.-L. (2000a). Micromorphometric changes in trunk diameter in relation to mild water stress in field grown vines. OENO One *34*, 41–47.

Van Leeuwen, C., Friant, P., Soyer, J.-P., Molot, C., Choné, X., and Dubourdieu, D. (2000b). Measurement of total nitrogen and assimilable nitrogen in grape juice to assess vine nitrogen status. OENO One *34*, 75–82.

Van leeuwen, C., Friant, P., Choné, X., Tregoat, O., Koundouras, S., and Dubourdieu, D. (2004). Influence of Climate, Soil, and Cultivar on Terroir. Am J Enol Vitic. *55*, 207–217.

Van Leeuwen, C., Vivin, P., and Gaudillère, P. (2008). Alimentation hydrique de la vigne et qualité des raisins. Innovations Agronomiques *2*, 159–167.

Van Leeuwen, C., Trégoat, O., Choné, X., Bois, B., Pernet, D., and Gaudillère, J.-P. (2009). Vine water status is a key factor in grape ripening and vintage quality for red Bordeaux wine. How can it be assessed for vineyard management purposes? OENO One *43*, 121–134.

Van Leeuwen, C., Roby, J.-P., and Rességuier, L. de (2018). Soil-related terroir factors: a review. OENO One *52*, 173–188.

Van Leeuwen, C., Destrac-Irvine, A., Dubernet, M., Duchêne, E., Gowdy, M., Marguerit, E., Pieri, P., Parker, A., de Rességuier, L., and Ollat, N. (2019). An Update on the Impact of Climate Change in Viticulture and Potential Adaptations. Agronomy *9*, 514.

Van Leeuwen, C., Barbe, J.-C., Darriet, P., Geffroy, O., Gomès, E., Guillaumie, S., Helwi, P., Laboyrie, J., Lytra, G., Le Menn, N., et al. (2020). Recent advancements in understanding the terroir effect on aromas in grapes and wines. OENO One.

Vandecan, S.M.G., Saison, D., Schouppe, N., Delvaux, F., and Delvaux, F.R. (2010). Optimisation of specialty malt volatile analysis by headspace solid-phase microextraction in combination with gas chromatography and mass spectrometry. Analytica Chimica Acta *671*, 55–60.

Verdú Jover, A.J., Lloréns Montes, F.J., and Fuentes Fuentes, M. del M. (2004). Measuring perceptions of quality in food products: the case of red wine. Food Quality and Preference *15*, 453–469.

Vespermann, K.A., Paulino, B.N., Barcelos, M.C., Pessôa, M.G., Pastore, G.M., and Molina, G. (2017). Biotransformation of α-and β-pinene into flavor compounds. Applied Microbiology and Biotechnology *101*, 1805–1817.

Villamor, R.R., and Ross, C.F. (2013). Wine Matrix Compounds Affect Perception of Wine Aromas. Annual Review of Food Science and Technology *4*, 1–20.

Vivas, N. (2014). Théorie et pratique de l'élevage des vins rouges (Editions Féret).

Viviers, M.Z., Smith, M.E., Wilkes, E., and Smith, P. (2013). Effects of Five Metals on the Evolution of Hydrogen Sulfide, Methanethiol, and Dimethyl Sulfide during Anaerobic Storage of Chardonnay and Shiraz Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry *61*, 12385–12396.

W

Waterhouse, A.L., Sacks, G.L., and Jeffery, D.W. (2016). Understanding Wine Chemistry (John Wiley & Sons).

van der Werf, M.J., Swarts, H.J., and Bont, J.A.M. de (1999). Rhodococcus erythropolis DCL14 Contains a Novel Degradation Pathway for Limonene. Applied and Environmental Microbiology *65*, 2092–2102.

Weyerstahl, P., and Licha, K. (1997). Structure-odor correlation, XXV. Synthesis and Olfactory Properties of the "Inverse" Megastigmatrienone and Its Analogs. Liebigs Annalen *1997*, 1919–1924.

White, F.H., and Wainwright, T. (1976). The Measurement of Dimethyl Sulphide Precursor in Malts, Adjuncts, Worts and Beers. Journal of the Institute of Brewing *82*, 46–48.

Wilkinson, K.L., Elsey, G.M., Prager, R.H., Pollnitz, A.P., and Sefton, M.A. (2004). Rates of Formation of cis- and trans-Oak Lactone from 3-Methyl-4-hydroxyoctanoic Acid. Journal of Agricultural and Food Chemistry *52*, 4213–4218.

Williams, P.J., Strauss, C.R., and Wilson, B. (1980). Hydroxylated linalool derivatives as precursors of volatile monoterpenes of Muscat grapes. Journal of Agricultural and Food Chemistry *28*, 766–771.

Winstel, D. (2019). Recherches sur les composés du bois de chêne modulant la saveur des vins et des eaux-de-vie. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux.

Winterhalter, P. (1991). 1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN) formation in wine. 1. Studies on the hydrolysis of 2,6,10,10-tetramethyl-1-oxaspiro[4.5]dec-6-ene-2,8-diol rationalizing the origin of TDN and related C13 norisoprenoids in Riesling wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry *39*, 1825–1829.

Winterhalter, P., and Rouseff, R. (2001). Carotenoid-Derived Aroma Compounds: An Introduction. In Carotenoid-Derived Aroma Compounds, (American Chemical Society), pp. 1–17.

Winterhalter, P., and Skouroumounis, G.K. (1997). Glycoconjugated aroma compounds: Occurrence, role and biotechnological transformation. In Biotechnology of Aroma Compounds, R.G. Berger, W. Babel, H.W. Blanch, Ch.L. Cooney, S.-O. Enfors, K.-E.L. Eriksson, A. Fiechter, A.M. Klibanov, B. Mattiasson, S.B. Primrose, et al., eds. (Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg), pp. 73–105.

Winterhalter, P., Sefton, M.A., and Williams, P.J. (1990). Volatile C13-Norisoprenoid Compounds in Riesling Wine Are Generated From Multiple Precursors. American Journal of Enology and Viticulture *41*, 277–283.

Wood, C., Siebert, T.E., Parker, M., Capone, D.L., Elsey, G.M., Pollnitz, A.P., Eggers, M., Meier, M., Vössing, T., Widder, S., et al. (2008). From Wine to Pepper: Rotundone, an Obscure Sesquiterpene, Is a Potent Spicy Aroma Compound. Journal of Agricultural and Food Chemistry *56*, 3738–3744.

Z

Zalacain, A., Marín, J., Alonso, G.L., and Salinas, M.R. (2007). Analysis of wine primary aroma compounds by stir bar sorptive extraction. Talanta *71*, 1610–1615.

Zeng, L. (2015). Étude de la composition macromoléculaire du raisin et des vins : impact sur la qualité sensorielle. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux.

Zhang, M., Xu, Q., Duan, C., Qu, W., and Wu, Y. (2007). Comparative study of aromatic compounds in young red wines from cabernet sauvignon, cabernet franc, and cabernet gernischet varieties in China. Journal of Food Science *72*, C248-252.

Zhang, P., Howell, K., Krstic, M., Herderich, M., Barlow, E.W.R., and Fuentes, S. (2015). Environmental Factors and Seasonality Affect the Concentration of Rotundone in Vitis vinifera L. cv. Shiraz Wine. PLoS One *10*.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Extrait d'une fiche de dégustation de l'exercice « Tâche de typicité »

(Partie 1 – Chapitre 2)

Dégustation « Bouquet de vieillissement »

Nom :

Prénom :

Date :

Première partie : tâche de typicité

Dégustation globale (olfactive et gustative)

12 échantillons de vins vous sont présentés. Imaginez ce que pourrait être un vin vieux présentant un « bouquet de vieillissement ». Pour chaque échantillon, vous devez vous demander s'il s'agit d'un bon ou mauvais exemple.

SERIE 1

Echantillon n° :

Mauvais exemple — Bon exemple

SERIE 2

Echantillon n° :

Mauvais exemple — Bon exemple

ANNEXE 2 : Exercice de dégustation – Profils sensoriels

(Exemple d'une fiche pour un échantillon)

(Partie 1 – Chapitre 2)

Dégustation « Bouquet de vieillissement »

Nom :

Prénom :

Date :

Seconde partie : description sensorielle

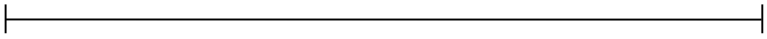
Dégustation olfactive

Pour chaque échantillon de vin, veuillez sentir le vin dans l'ordre inscrit sur la feuille. Notez l'intensité de chaque descripteur cité sur la fiche à l'aide des échelles présentées à côté. Après avoir évalué chaque descripteur, vous pouvez ajouter des commentaires libres.

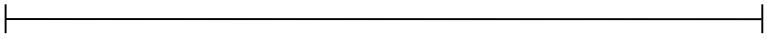
Echantillon n° :

SERIE 1

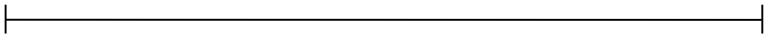
- Fruits frais rouges et noirs



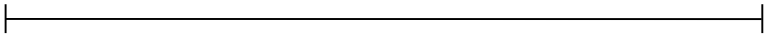
- Sous-bois



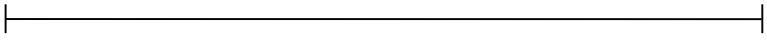
- Truffe



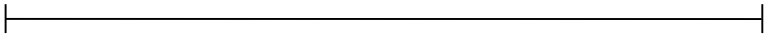
- Menthe



- Réglisse



- Grillé



Commentaires libres :

……
……
……
……
……
……
……

ANNEXE 3 : Paramètres de calibration et ions (m/z) utilisés pour la détection et la quantification des défauts

(Partie 1 - Chapitre 3)

Composé	Ions	Equation courbe de calibration	Coefficient R^2	Gamme de concentration	Etalon interne
IBMP	94, **124**, 151	153,7 ***x*** + 3,8	0,986	0-61 ng/L	EI 1
TCA	195, 210, **212**	169,6 ***x*** + 0,4	0,996	0-14 ng/L	EI 2
TBA	329, 331, **346**	184,6 ***x*** + 0,4	0,998	0-41 ng/L	EI 2
TeCA	231, 244, **246**	129,6 ***x*** + 0,1	0,992	0-18 ng/L	EI 2
PCA	265, 278, **280**	87,3 ***x*** + 0,5	0,941	0-16 ng/L	EI 2
EP	77, **107**, 122	2571,7 ***x*** + 6,7	0,999	0-1434 µg/L	EI 3
EG	122, **137**, 152	615, 7 ***x*** – 4,3	0,999	0-456 µg/L	EI 3
Géosmine	**112**, 149, 182	65,1 ***x*** + 5,3	0,993	0-100 ng/L	EI 4
IBMP-d3	95, **127**, 154	EI 1	-	-	-
TCA-d5	197, 215, **217**	EI 2	-	-	-
EG-d5	154, **139**, 157	EI 3	-	-	-
Geo-d5	114, 128, **186**	EI 4	-	-	-

EI : Etalon interne ; les ions m/z en gras correspondent aux ions de quantification ; ***x*** = A_i/A_{EI} avec A_i = aire du composé dosé

ANNEXE 4 : Paramètres de calibration et ions (m/z) utilisés pour la détection et la quantification des composés volatils issus du bois de chêne

(Partie 1 - Chapitre 3)

Composé	Ions	Equation courbe de calibration	Coefficient R^2	Gamme de concentration	Etalon interne
cis-Whisky-lactone	71, 87, **99**	1140 ***x***	0,997	0-143 µg/L	EI
trans-Whisky-lactone	71, 87, **99**	875 ***x***	0,999	0-210 µg/L	EI
Eugénol	131, 149, **164**	897 ***x***	0,999	0-182 µg/L	EI
Gaïacol	81, **109**, 124	511 ***x***	0,999	0-174 µg/L	EI
Vanilline	123, **151**, 152	1284 ***x***	0,999	0-1380 µg/L	EI
Acétovanillone	**151**, 166	1626 ***x***	0,999	0-230 µg/L	EI
Synringaldéhyde	167, 181, **182**	1253 ***x***	0,992	0-270 µg/L	EI
Furfural	**95,** 96	583 ***x***	0,999	0-900 µg/L	EI
5-méthylfurfural	81, 109, **110**	469 ***x***	0,999	0-530 µg/L	EI
Acétosynringone	**196**, 181, 153	1701 ***x***	0,998	0-458 µg/L	EI
Syringol	**154**, 139, 111	803 ***x***	0,999	0-725 µg/L	EI
1-dodecanol	55, 69, **83**	EI	-	-	EI

EI : Etalon interne ; les ions m/z en gras correspondent aux ions de quantification ; ***x*** = A_i/A_{EI} avec A_i = aire du composé dosé

ANNEXE 5 : Paramètres de calibration et ions (m/z) utilisés pour la détection et la quantification des 32 esters

(Partie 1 - Chapitre 3)

Composé	Ions	Equation courbe de calibration	Coefficient R^2	Gamme de concentration	Etalon interne
Propanoate d'éthyle (C_3C_2)	**102**, 57, 75	14,39 ***x***	0,99	0-1000 µg/L	EI 1
2-méthylpropanoate d'éthyle (iC_4C_2)	**116**, 88, 71	34,8 ***x***	0,97	0-863 µg/L	EI 1
Acétate de propyle (C_2C_3)	**61**, 43	63,4 ***x***	0,99	0-901 µg/L	EI 1
Butanoate de méthyle (C_4C_1)	**74**, 87, 71	109,6 ***x***	0,99	0-923 µg/L	EI 1
Acétate de 2-méthylpropyle (C_2iC_4)	**56**, 43	92,5 ***x***	0,99	0-932 µg/L	EI 1
Butanoate d'éthyle (C_4C_2)	**88**, 71, 60	109,5 ***x***	0,99	0-866 µg/L	EI 1
2-méthylbutanoate d'éthyle (2-meC_4C_2)	**102**, 57, 85	226,8 ***x***	0,99	0-611 µg/L	EI 1
3-méthylbutanoate d'éthyle (iC_5C_2)	**88**, 85, 57	201,7 ***x***	0,99	0-506 µg/L	EI 1
Acétate de butyle (C_2C_4)	**56**, 43	80,6 ***x***	0,99	0-1018 µg/L	EI 1
Acétate d'isoamyle (C_2iC_5)	**70**, 55, 43	176,4 ***x***	0,99	0-961 µg/L	EI 1
Pentanoate d'éthyle (C_5C_2)	**85**, 88, 101	190,3 ***x***	0,99	0-195 µg/L	EI 1
Hexanoate de méthyle (C_6C_1)	**74**, 87, 99	174,3 ***x***	0,99	0-227 µg/L	EI 2
Hexanoate d'éthyle (C_6C_2)	**88**, 99, 60	160,3 ***x***	0,99	0-939 µg/L	EI 2
Butanoate de 3-méthylbutyle (C_4iC_5)	**71**, 70, 55	291,2 ***x***	0,99	0-216 µg/L	EI 2
Acétate d'hexyle (C_2C_6)	**56**, 43	81 ***x***	0,99	0-595 µg/L	EI 2
Heptanoate d'éthyle (C_7C_2)	**88**, 101	247,6 ***x***	0,99	0-164 µg/L	EI 2

trans-2-hexanoate d'éthyle ($HexC_2$)	**99**, 97, 55	74,9 ***x***	0,99	0-220 µg/L	EI 2
Hexanoate d'isobutyle (C_6iC_4)	**99**, 56, 71	488,4 ***x***	0,99	0-157 µg/L	EI 2
Octanoate de méthyle (C_8C_1)	**74**, 87, 127	359,6 ***x***	0,99	0-239 µg/L	EI 2
Octanoate d'éthyle (C_8C_2)	**88**, 101, 127	151,1 ***x***	0,99	0-1016 µg/L	EI 3
Hexanoate de 3-méthylbutyle (C_6iC_5)	**99**, 70	118,3 ***x***	0,99	0-170 µg/L	EI 3
Acétate d'octyle (C_2C_8)	**56**, 43	35 ***x***	0,99	0-233 µg/L	EI 3
Nonanoate d'éthyle (C_9C_2)	**88**, 101	203,4 ***x***	0,99	0-1208 µg/L	EI 3
Décanoate de méthyle ($C_{10}C_1$)	**74**, 87	247,9 ***x***	0,99	0-223 µg/L	EI 3
Décanoate d'éthyle ($C_{10}C_2$)	**88**, 101	252,6 ***x***	0,98	0-226 µg/L	EI 3
Octanoate de 3-méthylbutyle (C_8iC_5)	**127**, 70	106,7 ***x***	0,98	0-1067 µg/L	EI 3
trans-géranate de méthyle ($GerC_1$)	**114**, 69	2,63 ***x***	0,98	0-212 µg/L	EI 3
Phénylacétate d'éthyle (PhC_2C_2)	**91**, 105	226 ***x***	0,97	0-229 µg/L	EI 4
Acétate de 2-phényléthyle (C_2PhC_2)	**104**, 91, 43	139,3 ***x***	0,97	0-789 µg/L	EI 4
Dodécanoate d'éthyle ($C_{12}C_2$)	**88**, 101	166,2 ***x***	0,92	0-804 µg/L	EI 3
Dihydrocinnamate d'éthyle ($dhCinC_2$)	**104**, 91, 178	163,2 ***x***	0,97	0-692 µg/L	EI 4
Cinnamate d'éthyle ($CinC_2$)	**176**, 131	32,8 ***x***	0,99	0-978 µg/L	EI 4
Leucate d'éthyle ($LeuC_2$)	**87**	3,32 ***x***	0,92	0-808 µg/L	EI 3
4,4,4-butanoate d'éthyle-d3	**93**, 106	EI 1	-	-	-
Hexanoate d'éthyle-d11	**106**, 93	EI 2	-	-	-
Octanoate d'éthyle-d15	**106,** 93	EI 3	-	-	-
trans-cinnamate d'éthyle-d5	**181**, 131	EI 4	-	-	-

EI : Etalon interne ; les ions m/z en gras correspondent aux ions de quantification ; ***x*** = A_i/A_{EI} avec A_i = aire du composé dosé

ANNEXE 6 : Paramètres de calibration et ions (m/z) utilisés pour la détection et la quantification du du cyclotène et de l'isophorone

(Partie 1 - Chapitre 3)

Composé	Ions	Equation courbe de calibration	Coefficient R^2	Gamme de concentration	Etalon interne
Cyclotène	51, 43, 55, 56, 69, 83, 97, 111, **112**	$0{,}0002\ \boldsymbol{x} - 1{,}2.10^{-3}$	0,986	4-110 µg/L	EI
Isophorone	39, 41, 53, 54, 55, 67, **82**, 83, 95, 138	$0{,}0049\ \boldsymbol{x} + 0{,}0049$	0,997	4-110 µg/L	EI
4-éthylphénol-d10	113, **131**	EI	-	-	-

EI : Etalon interne ; les ions m/z en gras correspondent aux ions de quantification ; $\boldsymbol{x} = A_i/A_{EI}$ avec A_i = aire du composé dosé

ANNEXE 7 : Paramètres de calibration et ions (m/z) utilisés pour la détection et la quantification du sulfure de diméthyle et du potentiel en DMS (pDMS) dans les vins

(Partie 1 - Chapitre 3 et Partie 2 - Chapitre 3)

Composé	Ions	Equation courbe de calibration	Coefficient R^2	Gamme de concentration	Etalon interne
DMS	45, 47, **62**	3260 ***x*** + 0,24	0,999	0-200 µg/L	EI
pDMS (à partir de *S*-méthylméthionine)	45, 47, **62**	9066,3 ***x*** + 3,3	0,997	0-376 µg/L	EI
Thiophène	45, 58, **84**	EI	-	318 µg/L	-

EI : Etalon interne ; les ions m/z en gras correspondent aux ions de quantification ; $\boldsymbol{x} = A_i/A_{EI}$ avec A_i = aire du composé dosé

ANNEXES 8 : Teneurs en composés volatils quantifiés dans les 80 vins rouges de Bordeaux

(Partie 1 - Chapitre 3)

ANNEXE 8.1 : Teneurs en composés volatils issus du bois de chêne (µg/L)

ANNEXE 8.2 : Teneurs moyennes (± écarts-types) en terpènes (µg/L)

ANNEXE 8.3 : Teneurs moyennes (± écarts-types) en C_{13}-norisoprénoïdes (µg/L)

ANNEXE 8.4 : Teneurs moyennes (± écarts-types) en terpènes à odeur « menthée » (ng/L)

ANNEXE 8.6 : Teneurs moyennes (± écarts-types) en esters (µg/L)

(EEAG, AAS et EEAS seulement)

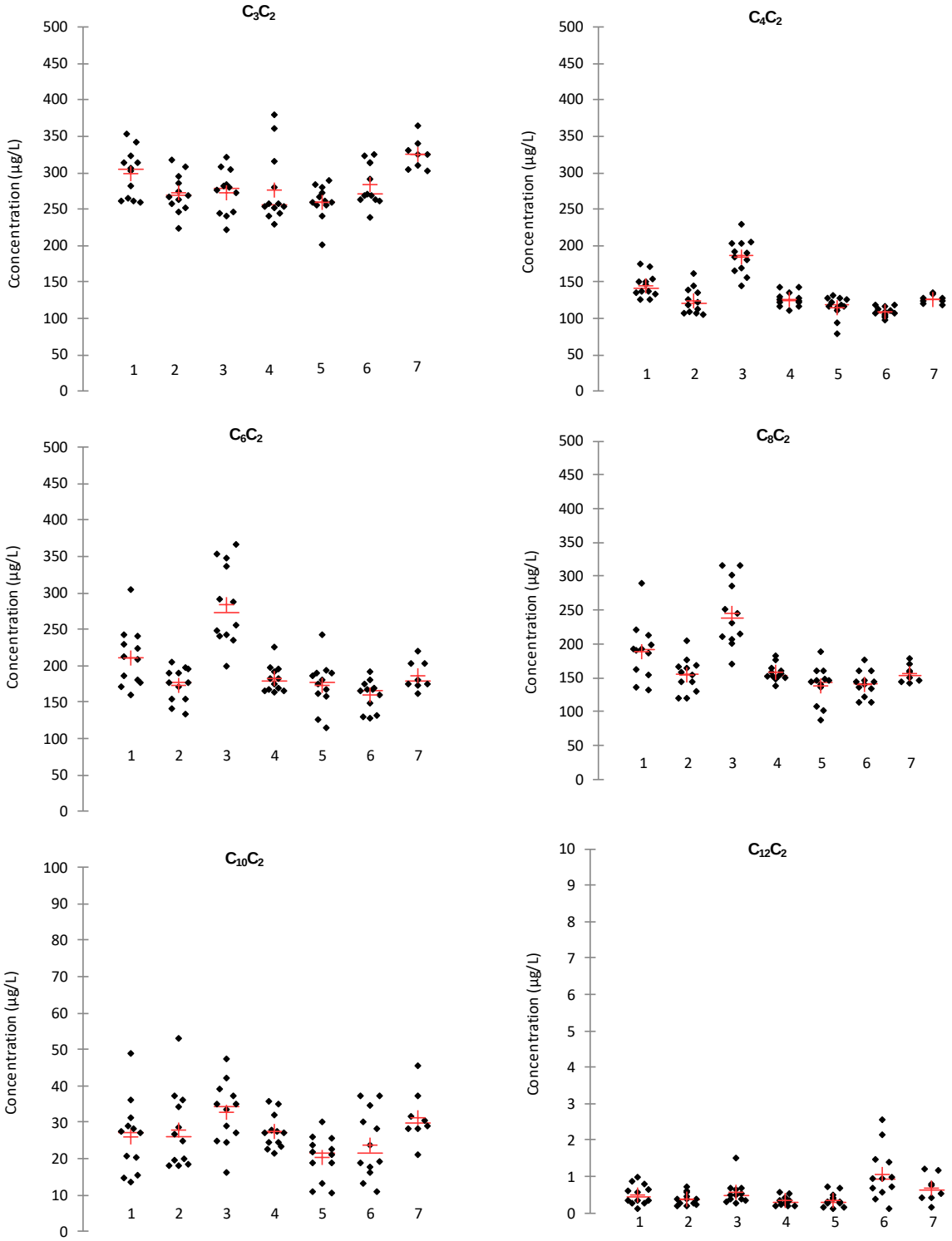
ANNEXE 8.7 : Teneurs en cyclotène et en isophorone (µg/L)

ANNEXE 8.8 : Teneurs en DMS et en pDMS (µg/L)

Non autorisées à la diffusion.

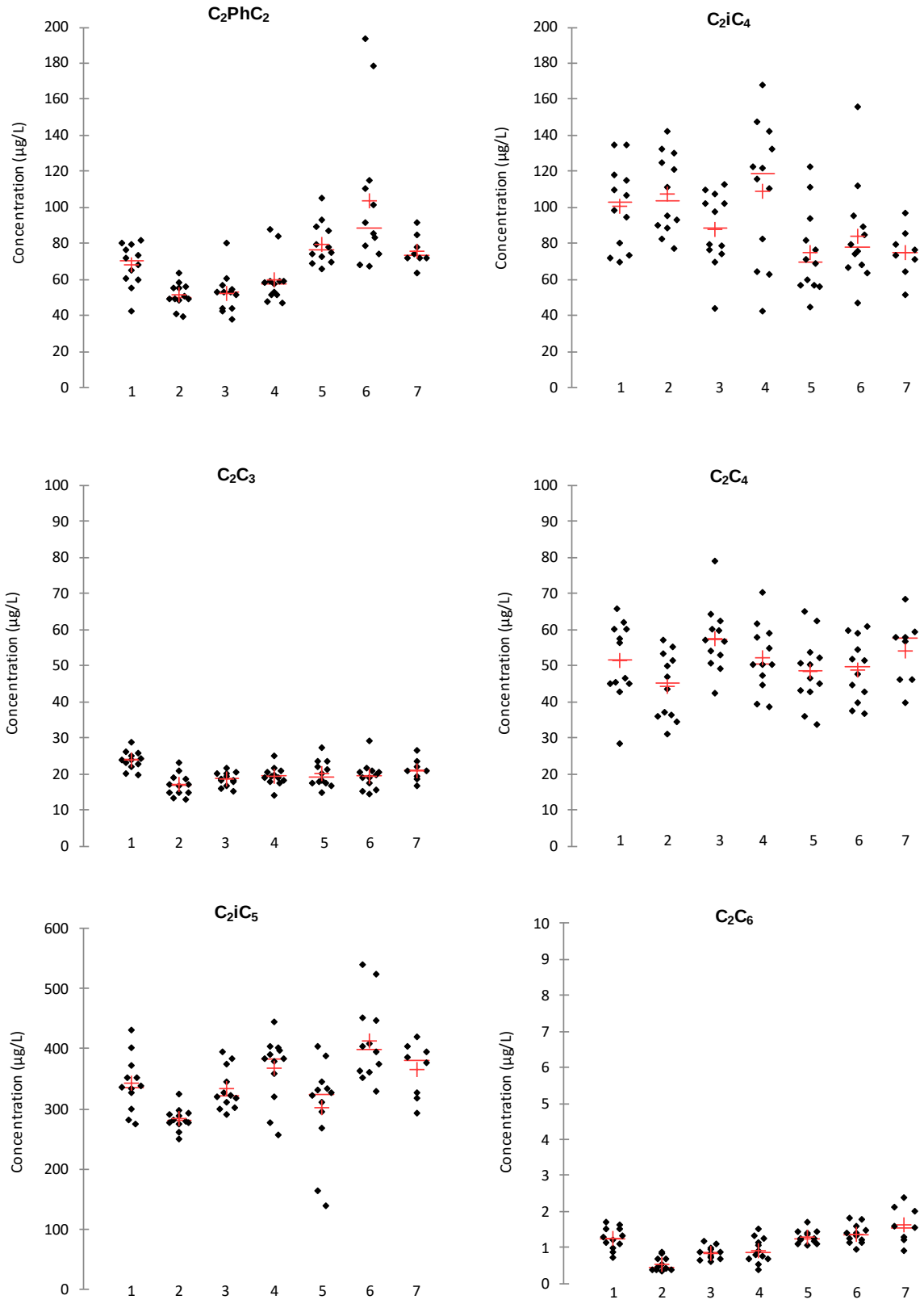
ANNEXE 8.5 : Dispersion des teneurs (µg/L) des EEAG et AAS mesurées dans les vins de chaque cru (1/2)

EEAG



ANNEXE 8.5 : Dispersion des teneurs (µg/L) des EEAG et AAS mesurées dans les vins de chaque cru (2/2)

AAS



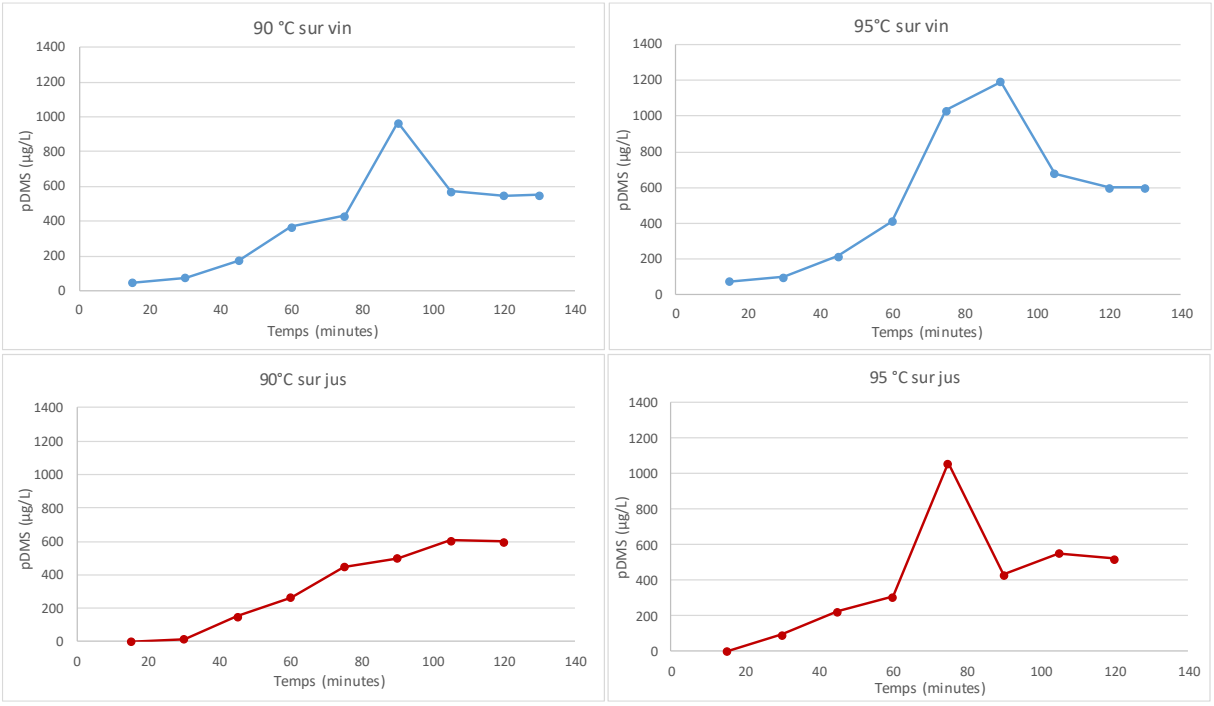
ANNEXE 9 : Valeurs de $\delta^{13}C$ (‰) mesurées dans les 80 vins rouges de Bordeaux

(Partie 2 - Chapitre 2)

Non autorisée à la diffusion.

ANNEXE 10 : Optimisation de la mesure du pDMS sur moût et sur vin

(Partie 3 - Chapitre 2 et Chapitre 4)



ANNEXE 11 : Paramètres de calibration utilisés pour le dosage du pDMS dans les moûts, vins et milieux modèles avec les méthodes de dosage optimisées

(Partie 3 - Chapitre 2 et Chapitre 4)

Matrices	Equation courbe de calibration	Coefficient R^2	Gamme de concentration	Etalon interne (EI)
Moûts	6339,6 ***x*** + 59,6	0,998	0-6370,5 µg/L	Thiophène
Mi-FA	10450 ***x*** + 3,0	0,990	0-1433,4 µg/L	Thiophène
Vin	8977,4 ***x*** + 6,4	0,995	0-1083,0 µg/L	Thiophène
Milieu modèle moût	6189,6 ***x*** + 8,7	0,999	0-6370,5 µg/L	Thiophène
Milieu modèle mi-FA	7645,9 ***x*** + 10,0	0999	0-1433,4 µg/L	Thiophène
Milieu modèle vin	16498 ***x*** + 27,7	0,994	0-1083,0 µg/L	Thiophène

$\boldsymbol{x} = A_i/A_{EI}$ avec A_i = aire du composé dosé

ANNEXE 12 : Teneurs en ammonium, azote assimilable, $\delta^{13}C$ et pDMS dans les 58 moûts issus des 5 derniers millésimes sur l'ensemble du vignoble bordelais

(Partie 3 - Chapitre 2)

Localisation	Millésime	Cépage	Type de sols	NH_4^+ (mgN/L)	Azote assimilable (mgN/L)	pDMS (µg/L)	$\delta^{13}C$ (‰)	Contrainte H
Saint-Emilion A	2015	CS	Calcosol	40,8	182	769,8 ± 23,2	-25,81	Faible
Entre-deux-mers	2015	CS	Boulbènes	49,3	134,4	498,9 ± 35,2	-25,75	Faible
Saint-Emilion B	2015	CS	Brunisol gravelo-sableux	20,4	88,2	467,5 ± 13,3	-26,46	Absente
Blaye	2015	CS	Brunisol	20,4	86,8	607,0 ± 28,8	-26,13	Absente
Margaux (Médoc S)	2015	CS	Peyrosol	66,3	148,4	624,9 ± 2,8	-24,18	Faible à modérée
Pessac-Léognan	2015	CS	Peyrosol	68	173,6	821 ,0 ± 13,7	-25,89	Faible
Pauillac (Médoc N)	2015	CS	Peyrosol	39,1	154	534,1 ± 28,6	-24,17	Faible à modérée
Saint-Emilion A	2015	M	Rendosol	27,2	159,6	2890,6 ± 116,4	-24,72	Faible
Entre-deux-mers	2015	M	Boulbènes	17	162,4	887,5 ± 7,2	-25,17	Faible
Saint-Emilion B	2015	M	Brunisol gravelo-sableux	12,75	114,8	1118,3 ± 12,1	-24,36	Faible à modérée
Blaye	2015	M	Brunisol rédoxique	12,75	120,4	969,2 ± 53,1	-25,72	Faible
Margaux (Médoc S)	2015	M	Peyrosol	40,8	154	988,6 ± 21,2	-24,04	Faible à modérée
Saint-Emilion A	2016	CS	Calcosol	30,6	100,8	402,2 ± 34,9	-24,62	Faible
Saint-Emilion B	2016	CS	Brunisol gravelo-sableux	10,2	100,8	185,4 ± 18,5	-27,12	Absente
Blaye	2016	CS	Brunisol	8,5	60,2	512,4 ± 9,0	-26,92	Absente
Margaux (Médoc S)	2016	CS	Peyrosol	47,6	121,8	326,2 ± 25,5	-24,08	Faible à modérée
Pessac-Léognan	2016	CS	Peyrosol	57,8	103,6	338,8 ± 6,0	-25,04	Faible
Pauillac (Médoc N)	2016	CS	Peyrosol	35,7	117,6	274,0 ± 25,9	-22,37	Modérée à sévère
Saint-Emilion A	2016	M	Rendosol	47,6	196	1751,0 ± 31,9	-23,92	Faible à modérée
Entre-deux-mers	2016	M	Boulbènes	10,2	88,2	654,3 ± 13,7	-25,33	Faible
Saint-Emilion B	2016	M	Brunisol gravelo-sableux	19,55	162,4	1303,4 ± 41,5	-23,66	Faible à modérée
Blaye	2016	M	Brunisol rédoxique	10,2	75,6	449,3 ± 10,2	-25,51	Faible
Pauillac (Médoc N)	2016	M	Planosol sédimorphe	6,8	117,6	1532,3 ± 61,5	-25,90	Faible
Saint-Emilion A	2017	CS	Calcosol	44,2	128,8	782,6 ± 4,5	-26,21	Absente
Entre-deux-mers	2017	CS	Boulbènes	12,75	58,8	55,0 ± 2,2	-27,11	Absente
Blaye	2017	CS	Brunisol	12,75	81,2	1248,3 ± 31,6	-27,45	Absente
Margaux (Médoc S)	2017	CS	Peyrosol	90,95	184,8	432,7 ± 9,6	-25,94	Faible
Pessac-Léognan	2017	CS	Peyrosol	49,3	110,6	90,6 ± 4,7	-26,36	Absente
Pauillac (Médoc N)	2017	CS	Peyrosol	35,7	103,6	140,7 ± 2,6	-24,65	Faible
Saint-Emilion A	2017	M	Rendosol	34,85	148,4	1773,4 ± 90,7	-25,26	Faible
Entre-deux-mers	2017	M	Boulbènes	6,8	100,8	828,0 ± 12,0	-26,35	Absente
Saint-Emilion B	2017	M	Brunisol gravelo-sableux	10,2	102,2	1030,7 ± 7,6	-26,30	Absente
Blaye	2017	M	Brunisol rédoxique	5,1	64,4	1234,5 ± 102,6	-26,57	Absente
Margaux (Médoc S)	2017	M	Peyrosol	28,9	165,2	1757,4 ± 45,6	-25,53	Faible
Saint-Emilion A	2018	CS	Calcosol	30,6	100,8	316,4 ± 16,7	-24,88	Faible
Entre-deux-mers	2018	CS	Boulbènes	25,5	81,2	231,4 ± 25,3	-25,76	Faible
Blaye	2018	CS	Brunisol	10,2	103,6	1809,6 ± 47,8	-26,40	Absente
Margaux (Médoc S)	2018	CS	Peyrosol	66,3	159,6	578,8 ± 24,2	-24,56	Faible
Pessac-Léognan	2018	CS	Peyrosol	51	154	525,3 ± 16,9	-24,98	Faible
Pauillac (Médoc N)	2018	CS	Peyrosol	61,2	176,4	505,6 ± 32,9	-22,63	Modérée à sévère

Saint-Emilion A	2018	M	Rendosol	32,3	128,8	738,7 ± 30,8	-23,52	Faible à modérée
Entre-deux-mers	2018	M	Boulbènes	8,5	86,8	821,2 ± 13,5	-25,46	Faible
Saint-Emilion B	2018	M	Brunisol gravelo-sableux	23,8	109,2	633,1 ± 34,7	-25,00	Faible
Blaye	2018	M	Brunisol rédoxique	20,4	103,6	1080,4 ± 16,0	-25,84	Faible
Margaux (Médoc S)	2018	M	Peyrosol	61,2	184,8	539,6 ± 16,0	-23,73	Faible à modérée
Pessac-Léognan	2018	M	Peyrosol	23,8	138,6	892,3 ± 107,4	-24,16	Faible à modérée
Pauillac (Médoc N)	2018	M	Planosol sédimorphe	18,7	120,4	1216,4 ± 139,6	-25,10	Faible
Saint-Emilion A	2019	CS	Calcosol	62,9	168	1012,7 ± 73,4	-24,93	Faible
Entre-deux-mers	2019	CS	Boulbènes	10,2	61,6	289,5 ± 29,3	-26,85	Absente
Blaye	2019	CS	Brunisol	2,8	42	377,5 ± 28,6	-26,28	Absente
Margaux (Médoc S)	2019	CS	Peyrosol	59,5	109,2	455,1 ± 42,2	-24,83	Faible
Pessac-Léognan	2019	CS	Peyrosol	52,7	128,8	575,1 ± 77,3	-25,08	Faible
Entre-deux-mers	2019	M	Boulbènes	28,9	148,4	1843,4 ± 78,8	-25,77	Faible
Saint-Emilion B	2019	M	Brunisol gravelo-sableux	17	210	2174,7 ± 17,7	-25,30	Faible
Blaye	2019	M	Brunisol rédoxique	22,1	137,2	2115,7 ± 117,8	-25,93	Faible
Margaux (Médoc S)	2019	M	Peyrosol	42,5	179,2	1296,5 ± 95,6	-23,99	Faible à modérée
Pessac-Léognan	2019	M	Peyrosol	35,7	138,6	1980,6 ± 169,3	-26,15	Absente
Pauillac (Médoc N)	2019	M	Planosol sédimorphe	37,4	156,8	1483,8 ± 77,7	-26,26	Absente

ANNEXE 13 : Paramètres de calibration utilisés pour la quantification des acides aminés libres dans les moûts

(Partie 3 - Chapitre 3)

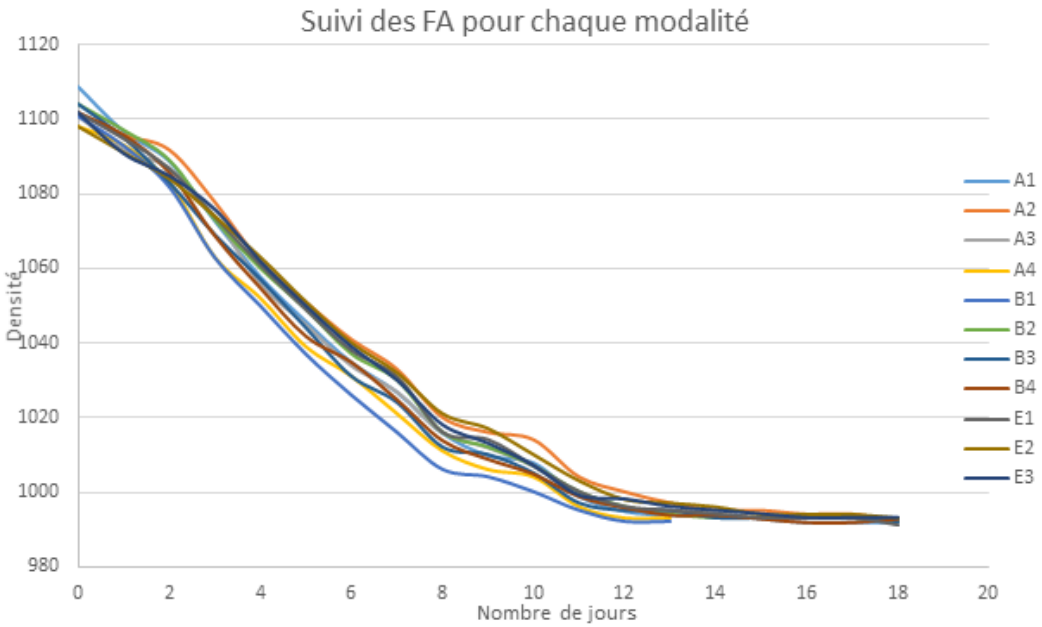
Acide aminé	Tr (min)	Équation courbe de calibration	Coefficient R^2	Gamme de concentration
ASP	2,9	0,0098 ***x***	0,998	0-59,4 mg/L
GLU	3,7	0,012 ***x***	0,998	0-77,1 mg/L
CYS	5,7	0,001 ***x***	0,996	0-73,9 mg/L
ASP-NH2	8,0	0,0184 ***x***	0,999	0-75,2 mg/L
SER	9,8	0,0209 ***x***	0,999	0-96,5 mg/L
GLN	11,3	0,0205 ***x***	0,999	0-46,6 mg/L
GLY	14,8	0,0358 ***x***	0,999	0-94,3 mg/L
THR	16,0	0,0141 ***x***	0,985	0-83,3 mg/L
ARG	18,8	0,0165 ***x***	0,998	0-70,9 mg/L
ALA	20,2	0,0395 ***x***	0,996	0-80,6 mg/L
GABA	22,4	0,0193 ***x***	0,998	0-86,7 mg/L
TYR	24,1	0,0145 ***x***	0,999	0-60,9 mg/L
ETN	26,7	0,0612 ***x***	0,999	0-80,8 mg/L
VAL	32,9	0,0219 ***x***	0,999	0-81,6 mg/L
MET	33,8	0,0218 ***x***	0,999	0-58,2 mg/L
TRP	37,2	0,0107 ***x***	0,999	0-59,7 mg/L
PHE	38,8	0,0158 ***x***	0,999	0-79,1 mg/L
ILE	39,5	0,0239 ***x***	0,999	0-47,6 mg/L
LEU	40,1	0,0156 ***x***	0,998	0-53,2 mg/L
ORN	42,0	0,0027 ***x***	0,996	0-61,5 mg/L
LYS	42,5	0,0036 ***x***	0,998	0-92,7 mg/L

$\boldsymbol{x} = A_i/A_{EI}$

avec A_i = aire du composé dosé ; A_{EI} : aire du pic de la norvaline (EI)

ANNEXE 14 : Suivi de fermentation alcoolique de l'essai « vinification sans réajustement en azote assimilable »

(Partie 3 - Chapitre 4)



ANNEXE 15 : Paramètres de calibration utilisés pour le dosage du DMS par SHS-GC-FPD dans différentes matrices

(Partie 3 - Chapitre 5)

Matrices	Equation courbe de calibration	Coefficient R^2	Gamme de concentration	Etalon interne (EI)
Solution modèle « vin »	48,262 ***x***	0,9997	0-200 µg/L	Thiophène
Vin blanc	43,45 ***x***	0,9992	0-200 µg/L	Thiophène
Vin rouge	39,701 ***x***	0,993	0-200 µg/L	Thiophène
Tr DMS : 2,3 min et Tr EI : 5 min ; ***x*** = A_i/A_{EI} avec A_i = aire du composé dosé				

ANNEXE 16 : Extrait de la fiche de dégustation utilisée pour l'étude du comportement sensoriel du DMS dans l'eau.

L'extrait montre la fiche présentée pour l'entraînement et pour une des modalités

(Partie 3 - Chapitre 5)

03.04.19

Étape 1. Présentation des descripteurs

Afin de vous préparer à l'exercice de dégustation qui va vous être proposé, sentez chacun des verres présentés. Attention ces verres contiennent des solides ou des liquides, il ne faut pas les agiter.

À **l'aide de votre odorat**, essayez d'identifier l'objet contenu dans le verre.

Enfin, retournez l'image correspondante pour avoir la réponse.

Vous pouvez ensuite passez dans la salle de dégustation pour effectuer l'exercice.

03.04.19

Nom, prénom :

Etape 2. Exercice de description des odeurs

Evaluation ortho nasale seulement

Ce livret est composé de 6 fiches de dégustation, correspondant aux 6 échantillons à évaluer. Pour vous guider, suivez les pages une à une et **évaluez dans l'ordre qui vous est imposé sur chacune des fiches.**

Portez le verre à votre nez et cochez-**la** ou **les** photos qui vous semblent associées aux odeurs perçues. Vous pouvez revenir plusieurs fois sur le verre.

Attention ! A chaque changement de poste vous ne pouvez plus revenir en arrière.

Au minimum, une image ou la case « autre » doit être cochée. Une même image peut être cochée plusieurs fois au fil de la dégustation.

Votre ordre est le suivant :

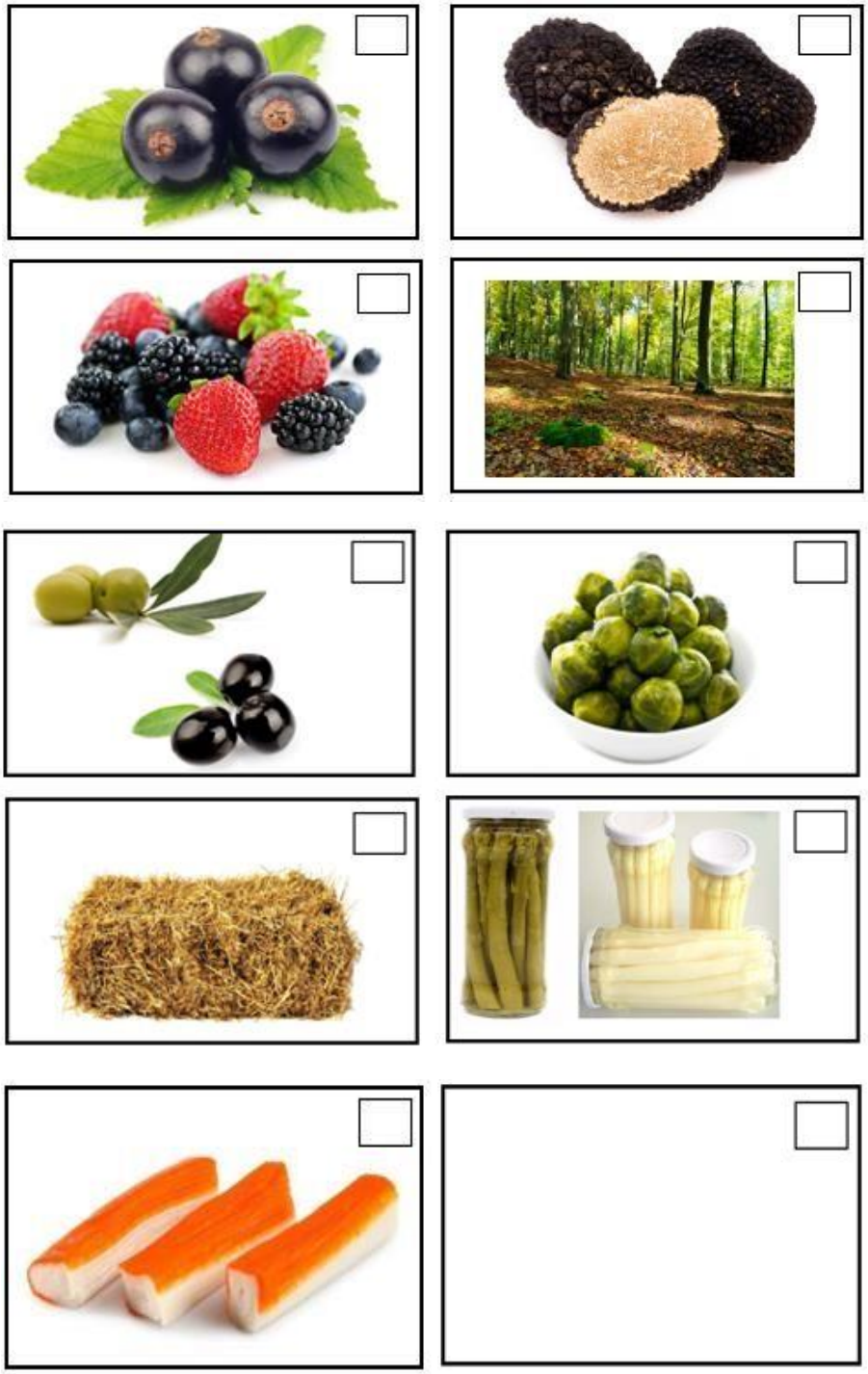
935-667-242-738-170-431

Merci pour votre participation.

Justine Laboyrie et Morgane Jouan

Evaluation ortho nasale

Echantillon N° : 935



Autre descripteur éventuel (non présenté en image) : …….

ANNEXE 17 : Extrait de la fiche de dégustation utilisée pour l'étude du comportement sensoriel du DMS dans le vin.

L'extrait illustre la fiche présentée pour 3 échantillons d'un vin d'un poste.

(Partie 3 – Chapitre 5)

24.04.19

Nom/Prénom : …….

Evaluation ortho nasale seulement

Ce livret est composé de 4 fiches correspondant à 2 postes d'évaluation (2 fiches par poste).
Evaluez dans l'ordre qui vous est imposé sur chacune des fiches.

A chacun des postes :

- Portez le verre « témoin » à votre nez
- Puis évaluez olfactivement chaque verre numéroté présenté, **en comparaison au témoin.**

Sentez de nouveau le témoin pour chaque comparaison (6 fois par poste).

- Enfin, indiquez les différences aromatiques perçues entre le témoin et l'échantillon numéroté, pour chacun des verres **(L'évolution des notes aromatiques, l'évolution de leur intensité, l'apparition d'éventuelles nouvelles composantes, l'amplification ou diminution d'un caractère…)**

  Essayez d'être précis dans le choix des descripteurs (par exemple : évitez les termes « végétal » ou « fruité » et favorisez les mots du type « asperge », « herbe coupée » « fraise » etc.)

  Si aucune différence n'est perçue, indiquez-le également.

Poste 1

- **Sentez le verre « Témoin »**
- **Sentez le verre n =° 740**
- **Comparez (description libre)**

Votre commentaire :

……
……
……
……
……
……

- **Sentez le verre « Témoin »**
- **Sentez le verre n =° 214**
- **Comparez (description libre)**

Votre commentaire :

……
……
……
……
……
……

- **Sentez le verre « Témoin »**
- **Sentez le verre n =° 825**
- **Comparez (description libre)**

Votre commentaire :

……
……
……
……
……
……

ANNEXE 18 : Fiche de dégustation utilisée pour l'étude du comportement sensoriel du DMS dans un vin de syrah en fonction des modalités de service.

(Partie 3 - Chapitre 5)

09.05.19

Nom/Prénom : …….

Evaluation orthonasale seulement

3 verres de vin numérotés vous sont présentés.
Décrivez librement vos perceptions, en suivant l'ordre d'évaluation qui vous est imposé sur la fiche.

Pour chacun des verres :

- Portez à votre nez
- Indiquez les composantes aromatiques perçues, leur intensité, les principaux descripteurs… (Vous pouvez également noter des similitudes ou différences perçues entre les 3 verres présentés)

  Essayez d'être précis dans le choix des descripteurs (par exemple : évitez les termes « végétal » ou « fruité » et favorisez les mots du type « asperge », « herbe coupée » « fraise »).

- **Sentez le verre n=° 364**
- **Décrivez :**

……
……
……
……
……
……
……
……

- **Sentez le verre n=° 527**
- **Décrivez :**

……
……
……
……
……
……
……
……

- **Sentez le verre n=° 159**
- **Décrivez :**

……
……
……
……
……
……
……
……

PUBLICATION SCIENTIFIQUE

Publication du développement de la méthode de dosage des composés menthés par SPME arrow GC-MS/MS (version soumise avant la révision)

(Partie 1 – Chapitre 3)

Minty aroma compounds in red wine: development of a novel automated HS-SPME-Arrow and gas chromatography-tandem mass spectrometry quantification method

Maria Tiziana Lisanti [a*], Justine Laboyrie [b], Stephanie Marchand-Marion [b], Gilles de Revel [b], Luigi Moio [a], Laurent Riquier [b], Céline Franc [b]

[a] Università degli Studi di Napoli Federico II, Dipartimento di Agraria, Sezione di Scienze della Vigna e del Vino, viale Italia, 83100, Avellino, Italy

[b] Université Bordeaux, Unité de recherche Œnologie, EA 4577, USC 1366 INRAE, ISVV, 33882 Villenave d'Ornon cedex, France

*Corresponding author: mariatiziana.lisanti@unina.it

Abstract

A novel automated method for the quantitative determination in red wine of several terpenoids, that could contribute to the minty notes of the red wine bouquet, and of their precursor limonene was developed. The method couples Headspace SPME-Arrow extraction to a triple quadrupole GC/MS-MS analysis. PDMS/DVB fiber resulted to be the best compromise for the extraction and an ionization energy of 30 eV permitted to maximize response values for the analytes detection. Several parameters affecting extraction (sample dilution, ionic strength, extraction temperature, extraction time and stirring speed) were also optimized. The method was validated and showed good linearity, repeatability, reproducibility, accuracy and the required low detection and quantification limits. The method was successfully applied to the analysis of fourteen red Bordeaux wines. Thank to this new simple and fast method, it will be possible to deepen the knowledge on the molecular origin and the development of minty aroma in wine.

Keywords: SPME-Arrow; Tandem mass spectrometry; Terpenoid limonene derivatives; Red wine; Minty aroma

1. Introduction

The aroma description of wine is one of the keys of the knowledge of the fundamentals of wine quality. To unravel the structures, quantities and sensorial properties of wine aroma compounds, it is necessary to set up validated quantification methods and to compare measurements to sensorial data (Polášková, Herszage & Ebeler 2008). Regarding the investigation of red wines, the challenges are numerous: performing the correct extraction of compounds, accessing very low detection limits, assuring the accuracy of the quantifications and being easy to use (Ebeler, 2001). These performances of accuracy and ease of use permit to generate a large quantity of data, to repeat measurements and to get confidence into these data sets. Having available good quantification methods is the only way to improve knowledge on wine quality and on how agronomic, climatic and winemaking parameters influence that quality (van Leeuwen & Darriet, 2016; Le Menn, van Leeuwen, Picard, Riquier, de Revel & Marchand, 2019).

Concerning the quality of wine, one of the characteristics expected by consumers after opening a bottle of aged wine is the quality of the "ageing bouquet", that is to say the homogeneous, harmonious flavor resulting from the complex transformation process in wine during bottle storage (Picard, Tempere, de Revel, & Marchand, 2015). Recently, a series of studies aimed to deciphering the ageing bouquet of red Bordeaux wines by a sensory and chemical point of view (Picard *et al.*, 2015; Picard, de Revel, & Marchand, 2017a; Picard, Lytra, Tempere, Barbe, de Revel, & Marchand, 2016a; Picard, Tempere, de Revel, & Marchand, 2016b). A sensory study on the concept of the ageing bouquet of red Bordeaux wine designated the minty aroma as one of the seven aromatic notes linked to its quality (Picard *et al.*, 2015). A group of terpenoids, resulting from the limonene secondary transformation pathway, was

identified in wines as possibly implicated in the expression of these minty notes as well as in the appreciable refreshing sensation in aged red wines (Picard *et al.*, 2016a; Picard *et al.*, 2017a; Picard, Franc, de Revel, & Marchand, 2018). Considering the necessity to chemically explain the origin of minty notes and to understand their sensorial implication in the aroma of wine, Picard and co-workers (2018) recently developed and validated an analytical method to determine minty terpenoids in red wine. In this method, two extraction techniques, Solid Phase Extraction (SPE) and Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), were coupled to GC/MS analysis in Selected Ion Monitoring (SIM) mode. The quantification of limonene-derived minty compounds in red wine was achieved, but the method was too time-consuming and required a too large sample volume (100 mL) to permit a real advancement of the wine composition knowledge. Nevertheless, this specific method permitted to show that minty compounds are present at trace levels (from few to several hundreds of ng/L) (Picard *et al.*, 2018) reason why, although several of these compounds had already been identified in wine, quantitative data had not been previously reported (Perestrelo, Caldeira, & Câmara, 2012; Welke, Manfroi, Zanus, Lazarotto, & Zini, 2012; Robinson, Boss, Heymann, Solomon, & Trengove, 2011; Nasi, Ferranti, Amato, & Chianese, 2008). However, despite their extremely low concentrations, the sensory role of minty terpenoids in wine may stand on enhancing effects, as already been highlighted for *p*-menthane lactones (Picard *et al.*, 2017a). Also, the origin of these compounds in wine and their evolution during ageing is still to be clarified, as well as their dependence on grape variety, agronomic variables and winemaking and ageing conditions. With the objective to better understand the fascinating phenomenon of wine ageing bouquet development, it is necessary to obtain quantitative data on large sets of wine, therefore a fast and possibly automated analytical method is required. In light of this, the present work was devoted to develope a new easy-to-use and automated method able to quantify the target compounds at low levels (ng/L) in a complex matrix as red wine. Considering the interest in quantifying minty compounds in aged wines, the sample size was considered a key point for this analysis. Each bottle of aged wine is a precious and unique sample, because of small differences of corks or ageing conditions, therefore it is necessary to analyze several bottles of a same wine and to consider them as sisters and not twins. Moreover, it is crucial to have the possibility to analyze a wine over time, for this reason, the size of the samples must be as small as possible, to permit to take several samples from the bottles, by using mini-invasive tools in controlled conditions, and make several analyses over time. On another hand, because of the complexity of the wine matrices and to optimize the chromatographic resolutions, the GC run times in wine volatile analysis are quite long therefore, an automated technique with repeatable results for detecting these compounds was highly desirable. Additionally, the higher selectivity provided by tandem MS detection, compared to single MS detection, offers several advantages in better handling co-elution and achieving lower detection limits. Among the various extraction techniques reported in wine aroma analysis, Solid Phase Microextraction (SPME) has been widely applied (Polášková *et al.*, 2008). Recently, a new SPME-based device, known as SPME-Arrow, has been developed to improve response area, extraction efficiency, and mechanical robustness of traditional SPME (Zhang, Wang, Wang, Chen

& Xu, 2020; Herrington, Gómez-Ríos, Myers, Stidsen and Bell, 2020). SPME-Arrow employs a thicker extraction phase coated on a relatively wide stainless-steel rod which implies that on average the phase volume of SPME-Arrow is 25-fold higher than that used in traditional SPME (Zhang *et al.*, 2020). Despite its potentialities, no application to the analysis of wine matrix is reported (Herrington *et al.*, 2020). Nine compounds were selected as target analytes for the new method: limonene, 1,8-cineole, menthone, carvone, pulegone, piperitone, mintlactone, and the two esters menthyl acetate and neomenthyl acetate. The chemical structures of the studied compounds are presented in Figure 1S. The two esters (menthyl acetate and neomenthyl acetate) were added to the pool previously considered by Picard *et al.* (2018) as we had identified them in aged red wines by applying the SPE-SBSE/GC-MS-SIM method. Selectivity and sensitivity for all these analytes, were achieved by coupling the considerable extraction capacity of the new SPME-Arrow tool to the high sensitivity of a triple quadrupole GC-tandem mass spectrometry analysis (Cordero, Schmarr, Reichenbach & Bicchi, 2017; Ziegler & Schmarr, 2019). After optimization and validation, the new method was applied to a set of 14 red Bordeaux wines from various vintages and appellations.

2. Materials and methods

2.1 Solvents and chemicals

Ultra-pure water (18.2 MΩ/cm) was obtained from purified water (Prima system; ELGA LabWater, Veolia Water STI, Anthony, France) using a USF Maxima system (ELGA LabWater, Veolia Water STI, Anthony, France). Ethanol (purity ≥ 99.9 %) was supplied by Merck (Darmstadt, Germany). Methanol (purity ≥ 99.9%), dichloromethane (purity ≥ 99.9%) and acetonitrile (purity ≥ 99.9%) were supplied by VWR Chemicals (Fontenay-sous-Bois, France). Sodium chloride (purity ≥ 99.5%) was supplied by Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France).

2.2 Reference compounds

Standard compounds were purchased from commercial sources, as follows: (*S*)-(−)-limonene (CAS registry No. 5989-54-8, purity > 96%); 1,8-cineole (CAS registry No. 470-82-6, purity ≥ 99%); (1*R*,4*S*)-(−)-menthone, CAS registry No. 14073-97-3, purity = 90%); (*R*)-(+)-pulegone (CAS registry No. 89-82-7, purity > 98%); (*S*)-(+)-carvone (CAS registry No. 2244-16-8, purity > 96%); mintlactone (mixture of the two diastereoisomers in a ratio of 95:5), CAS registry No. 13341-72-5, purity ≥ 99%) and (1*R*)-(−)-menthyl acetate (CAS registry No.2623-23-6, purity = 98%) were supplied by Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France). The compound (1*S*)-(+)-neomenthyl acetate (CAS registry No.2552-91-2, purity > 99%) was purchased from Santa Cruz Biotechnology (Heidelberg, Germany). Racemic piperitone (a mixture of the two enantiomers, 6*R* and 6*S*, CAS registry No. 89-81-6, purity > 92%) was supplied by Chemos (Regenstauf, Germany). The internal standard (*R*)-(+)-camphor (CAS registry No.

464-49-3, purity > 97%) was purchased from Merck (Fontenay-sous-Bois, France). Individual stock solutions at around 1 g/L and working mixture solutions were prepared in acetonitrile and stored at -20 °C.

2.3 Wine samples

A commercial Cabernet Sauvignon red wine (Wine 1) was used in the phase of optimization and a commercial Merlot red wine (Wine 2) in the phase of validation of the method. Five commercial red Bordeaux wines were used for the estimation of accuracy. The validated method was applied to the analysis of a series of 14 red Bordeaux commercial wines, aged from 1 to 20 years. Each wine was analyzed in triplicate.

2.4 Method development

2.4.1 GC/MS-MS analysis

Analyses were performed using a TRACE 1310 gas chromatograph coupled to a TSQ 8000 Evo Triple Quadrupole MS-MS instrument and equipped with a TriPlus RSH auto-sampler (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). A HP-5MS fused-silica capillary column (30 m x 0.25 mm, 0.25 µm film thickness, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) was used. The carrier gas was helium (Linde, Toulouse, France) at a constant flow of 1 mL/min. The injection port temperature was 280 °C. Injection was in splitless mode with a 50 mL/min helium purge flow at 2 min. The GC oven temperature program was: 40 °C for 2 min, increasing at 2 °C/min to 140 °C, then at 10 °C/min to 250 °C, held for 20 min. The temperature program was optimized by testing rates of 1 °C/min, 1.5 °C/min, 2 °C/min, 2.5 °C/min and 3 °C/min, from 40 °C to 140 °C. The best separation and peak geometry were obtained with the rate of 2 °C/min. Mass spectrometer was equipped with an electron impact ionization source (EI) (30 eV, 50 µA) and the acquisition was performed in selected reaction monitoring (SRM) mode. Argon was used as collision gas (4.8 bars). The transfer line and the ion source temperature were set at 280 and 230 °C, respectively. The optimal transitions and collision energies are reported in Table 1S together with the molecular weights, boiling points, LogP values and retention times of the analytes.

2.4.1.1 Optimization of MS-MS detection

The MS-MS parameters, ionization energy, transitions and collision energies, have been optimized. First, transitions and collision energies were optimized at each of the following ionization energies (12 eV, 20 eV, 30 eV, 70 eV), by using a solution at 500 µg/L of the analytes in dichloromethane injected by liquid injection (1 µL) by the TriPlus RSH auto-sampler (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Then, transitions and collision energies were confirmed by analyzing both Wine 1 spiked with 1 µg/L of the analytes and a solution methanol/water 15% v/v at 10 µg/L of the analytes

(SPME-Arrow extraction, PDMS 250 µm fiber, TriPlus RSH auto-sampler). Finally, the optimized detection methods at the four ionization energies were compared among them by the analyses of 500 µg/L of the analytes in dichloromethane (liquid injection by the TriPlus RSH auto-sampler). GC analysis conditions were those described in 2.4.1.

2.4.2 Solid phase microextraction (SPME)-Arrow

2.4.2.1 SPME-Arrow fiber coating selection

Six different fiber coatings were tested: polydimethylsiloxane 250 µm phase thickness (PDMS-250), polydimethylsiloxane 100 µm phase thickness (PDMS-100), polydimethylsiloxane/divinylbenzene 120 µm phase thickness (PDMS/DVB), polydimethylsiloxane/carbon wide range 120 µm phase thickness (PDMS/CAR), polyacrylate 100 µm phase thickness (PA), polydimethylsiloxane/carbon wide range/divinylbenzene 110 µm phase thickness (PDMS/CAR/DVB). All fibers have a phase length of 20 mm. Before use, the fibers were conditioned into the fiber conditioning station according to the manufacturer's recommended conditions (time and temperature). All the fibers were supplied by Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA. The experiment for the choice of fiber coating was conducted by analyzing a triplicate of 5 mL of Wine 1 diluted 1:2 with water, added with 3 g of NaCl and spiked with three concentrations of the studied compounds (about 25 ng/L, 100 ng/L and 250 ng/L, except mintlactone that was added at 100 ng/L, 400 ng/L and 1000 ng/L, respectively). Extraction conditions were the following: incubation time 5 min, extraction time 60 min, extraction temperature 40 °C, stirring speed 500 rpm. GC-MS/MS analysis was performed according to the previously described optimized conditions.

2.4.2.2 Optimization of HS-SPME-Arrow extraction

Extractions were carried out by automated headspace (HS) SPME-Arrow on a TriPlus RSH automatic sampler (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). The HS-SPME-Arrow conditions were optimized for the selected fiber, in order to enhance the overall method sensitivity. The following parameters were optimized by comparing the absolute response of each compound: dilution of the sample (not diluted, diluted at 20% v/v and 50% v/v with ultra-pure water), ionic strength (0, 1.5, 3, 3.5, 4, 4.5 g NaCl), extraction temperature (40, 50, 60 °C), extraction time (40, 60, 80 min), and stirring speed (500, 1000, 1500 rpm). Experiments were carried out on Wine 1 spiked with two concentrations of the minty compounds (about 25 and 100 ng/L, except mintlactone added at almost 100 ng/L and 400 ng/L, respectively), in order to take into account the matrix effect in the optimization of the different SPME extraction parameters. The optimized extraction procedure was as follows: wine samples (containing 10 µg/L of (*R*)-(+)-camphor as internal standard) were diluted at 50% v/v with ultra-pure water and 10 mL were transferred in 20 mL-vials containing 4 g of NaCl. The vials were closed with

aluminum caps (silicone/PFTE septum, Chromoptic, Courtaboeuf, France), vortexed and placed in the automatic sampler. At the moment of the extraction, wine samples were stirred at 500 rpm for 10 min at 50 °C, and then the selected fiber (PDMS/DVB 120 µm, Thermo Fisher Scientific) was exposed to the headspace of the vial at 50 °C for 60 min, under continuous stirring (500 rpm). Desorption was performed into the GC injector at 280 °C for 2 min, in splitless mode. Before each analysis the fiber was conditioned at 280 °C for 10 min, while after each sampling the fiber was washed for 2 min in ethanol and then heated for 10 min at 280 °C. All samples were analyzed in triplicate. A blank analysis, that is to say the analysis of the fiber in the same conditions but without the adsorption of the analytes, was made between two subsequent different samples, in order to check fiber cleaning.

2.5 Method validation

Method linearity was evaluated using Wine 2 through the calibration graphs obtained from the analysis of thirteen calibration levels of the analytes, in the range of concentrations reported in Table 1. Each calibration level was analyzed in triplicate.

First, the limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) were estimated from the calibration curves as, respectively, 3.3 and 10 x (standard deviation of y-intercepts / slope of calibration curve). The values were then validated by the visual evaluation of chromatograms from the analysis of samples at the estimated LOD and LOQ, to confirm if the analytes could be reliably detected and quantified (Table 1).

Repeatability (intraday precision) was estimated by relative standard deviation (RSD%) of the analysis of ten replicates of the Wine 2, spiked at two different levels of the analytes. The spiked concentrations are reported in Table 1.

Reproducibility (interday precision) was evaluated by RSD% of the analysis of fifteen replicates of the Wine 2 spiked with the analytes, over a period of five weeks (three replicates per week). The spiked concentrations corresponded to those of *spiking 2* of the repeatability experiment. The samples were individually frozen on the first day of measurement and the analyses were performed by two different operators. The analysis of each sample was performed in triplicate.

The accuracy of the analytical method was evaluated by calculating the percentage recoveries of the analytes, spiked in five different commercial red wines at three different concentrations (Table 2). Each spiked wine was analyzed in triplicate. Quantitative data were obtained by interpolation on the calibration graphs obtained as previously described.

For the calculation of % recovery, the following equation was used:

Recovery (%) = [(concentration determined in spiked wine – concentration determined in unspiked sample)/ added concentration] x 100%.

3. Results and discussion

3.1 Optimization of MS-MS detection

The tandem MS technique is based on a double-step mass spectrometric selection, the first step is the electronic impact ionization of the molecules in the source. An ionization energy of 70 eV is mostly used in MS-MS methods applied to the analyses of wine volatiles (Langen, Wang, Slabizki, Wall & Schmarr, 2013; Duhamel et al., 2018; Mayr, Capone, Pardon, Black, Pomeroy & Francis, 2015), however this parameter was optimized by testing four different ionization energies (12 eV, 20 eV, 30 eV, 70 eV). Optimization of the SRM transitions was conducted using Auto SRM software (Thermo Fisher Scientific) for each ionization energy and each compound, by using a 500 µg/L solution in dichloromethane of the analytes. Finally, Wine 1 spiked with 1 µg/L of each compound was analyzed, to include the effect of matrix in the choice of the definitive transitions. The molecules were extracted from wine using the SPME-Arrow device (fiber coating PDMS-250). Three transitions (one quantifier and two qualifiers) were selected for each compound, based on specificity and sensitivity (data not shown). It is important to report that the best transitions were different depending on the ionization energy. To determine the best detection method, a 500 µg/L solution of the analytes in dichloromethane was analyzed by GC/MS-MS with the four optimized detection methods (12 eV, 20 eV, 30 eV, 70 eV), in triplicate. The ionization energy of 30 eV maximized the peak area of the quantifier transition for all the compounds (Figure 2S). Neomenthyl acetate and menthyl acetate were included into the method after this phase of optimization, therefore for these compunds, the optimization of the SRM transitions was carried out directly at the chosen ionization energy of 30 eV. The detection parameters of the method at 30 eV (transitions and collision energies) are reported in Table 1S.

3.2 SPME-Arrow optimization

3.2.1 Fiber coating choice

The affinities between six different SPME sorbents (PDMS-250, PDMS-100, PDMS/DVB, PDMS/CAR, PDMS/CAR/DVB, PA) and the studied compounds were compared. After HS-SPME-Arrow GC/MS-MS analysis, the measured quantifying transition peak areas were normalized considering the highest area value of each compound as 100%. Figure 1 reports the normalized absolute peak areas (%) of the analysis of the wine spiked with almost 25 ng/L of the analytes, except mintlactone added at 100 ng/L. For 1,8-cineole, menthone, pulegone, carvone, piperitone and camphor the highest extraction efficiency was obtained by using PDMS-250 fiber, for the two esters menthyl acetate and neomenthyl acetate the best extractions, in terms of absolute response and repeatability, were achieved by using PDMS-250 and PDMS/DVB fibers, while limonene was more efficiently extracted by PDMS/CAR fiber. The limonene levels in wines are huge compared to the other compounds. The quantified levels range from about 0.1 µg/L to several dozens of µg/L in Albariño wines (Picard *et al.*,

2018; Vilanova & Sieiro, 2006). According to these data, the increasing of the sensitivity of the method towards limonene was not a parameter to consider. Moreover, with increasing surface area the peak of limonene became asymmetrical and tailed and it tended to overlap the adjacent peak of 1,8-cineole. At the opposite, mintlactone showed the smallest response in terms of absolute peak area and therefore it could be considered as a limiting parameter. The highest extraction efficiency for mintlactone was obtained by using PDMS/DVB fiber. For the other analytes and camphor, the extraction efficiency obtained by using PDMS/DVB fiber was suitable for our quantification purposes (normalized peak areas between 60 and 100%) and the essays carried out with higher concentrations of spiking gave results that followed the same trend (data not shown). Considering the extraction performances of the fibers, the peak shapes and the abundances of each minty compound in wines, the PDMS/DVB coating was finally designated as the best compromise and chosen to be employed in the method. A coating close to PDMS/DVB, the PDMS/CAR/DVB, had been chosen by Noguerol-Pato, González-Barreiro, Cancho-Grande, & Simal-Gándara (2009) for the analysis of terpenes in wines, but the authors compared only two coatings PDMS/CAR/DVB and PA.

3.2.2 Extraction conditions

In order to optimize the extraction of minty compounds several factors influencing the partitioning between wine liquid phase and headspace were studied, with the aim to enhance the adsorption on the selected SPME-Arrow stationary phase (PDMS/DVB) (Pawliszyn, 2012). Several chemical parameters were tested. Alcoholic degree was modified by diluting samples with water and ionic strength was modified by adding sodium chloride. Some physical parameters were also studied such as sample stirring speed, temperature and time of extraction. Experiments were carried out on Wine1, spiked with two concentrations of the minty compounds (almost 25 and 100 ng/L, except mintlactone added at almost 100 ng/L and 400 ng/L, respectively), in order to take into account the matrix effect in the optimization of the different SPME extraction parameters.

Sample dilution

The dilution of samples with water is commonly used to enhance SPME extraction of volatiles from complex organic matrices, by reducing the matrix effect and by decreasing the concentration of organic solvent (ethanol in the case of wine) in the liquid phase (Pawliszyn, 2012). On the other hand, dilution decreases the concentration of the analytes in the sample therefore, the best compromise between these two opposite effects must be explored in order to increase the sensitivity of the method. In this trial, the addition of salt was of 3 g and the extractions were carried out for 60 min at 40 °C and with a stirring of 500 rpm. Final sample volume ("as is" or diluted wine) was 10 mL. As expected, results varied according to the LogP of analytes: the most hydrophobic compounds (neomenthyl acetate, menthyl acetate and limonene, LogP = 4.4 to 4.8) had the highest peak area when not diluted samples were analyzed, while the dilutions at 50% v/v and 20% v/v determined a progressive decrease of peak area (Figure 2). For these analytes, the decrease in concentration, due to dilution, prevailed over the increase

in the polarity of the solvent (wine), in modulating the volatilization of analytes into the headspace. On the contrary, for all the other compounds presenting LogP = 1.9 to 3.2, the dilution at 50% v/v showed to be the optimal compromise in order to maximize peak areas. As for limonene, neomenthyl acetate and menthyl acetate the 50% dilution also gave a response suitable for our analytical purposes in relation to their concentration in wine, and with lower RSDs%, this condition was chosen and used in the following phases of optimization.

Stirring speed

Sample stirring is used in HS-SPME extraction to increase transport of volatile molecules from the sample matrix into the headspace, thus reducing extraction time (Pawlizsyn, 2012). However, an excessive stirring may cause sample drops to wet the fiber, which should be avoided in headspace analysis as it may negatively affect the method reliability. The essay was conducted on Wine 1 spiked with almost 100 ng/L of all the analytes, except mintlactone added at 400 ng/L. Samples of 50% v/v diluted wine (10 mL) were added with 3 g of NaCl and extracted for 60 min at 40 °C. The differences in terms of absolute peak area among the three stirring speed tested were small (Figure 3S), with a marked tendency to decrease as the stirring speed increased. The stirring at 500 rpm determined the highest peak area for all the compounds, therefore, this condition was chosen as optimal and applied in the following phases.

Ionic strength (addition of salt)

Salt addition increases the ionic strength of the sample solution and determines the so-called “salting-out” effect. The salting-out effect causes the volatile molecules to pass more readily from the sample matrix to headspace, due to a decrease in their solubility, therefore it is commonly exploited to enhance extraction in HS-SPME methods. Moreover, working at salt saturation allows also to normalize differences in salt composition of real samples (Pawlizsyn, 2012). To check this “salting-out” effect, different amounts of NaCl (0 g, 1.5 g, 3 g, 3.5 g, 4 g and 4.5 g) were added to Wine 1 spiked with 25 and 100 ng/L of the analytes, except mintlactone added at 100 ng/L and 400 ng/L, respectively. Samples were diluted at 50% v/v with water. The extractions were carried out for 60 min at 40 °C. Figure 4S shows the extraction efficiency for the 100 ng/L spiked wine. As expected, for most of analytes responses in terms of absolute peak area increased from 0 g to 3 g of NaCl, then reached a plateau, the same trend was found for 25 ng/L spiked wine. Limonene showed a different behavior, as its peak area increased until the highest salt addition. Considering that in our conditions, the addition of 4 g of NaCl was saturating, this was adopted for the method and used in the following phases of optimization.

Extraction time and temperature

Higher extraction temperature may enhance the partitioning of compounds into the headspace but at the same time the partitioning into the sorbent may decrease for those analytes whose partitioning into the fiber is an exothermic process (Pawlizsyn, 2012). For this reason, the extraction rate is strongly influenced by temperature, so both parameters (time and temperature) were studied simultaneously. Temperatures of 40, 50 and 60 °C and times of extraction of 40, 60 and 80 minutes were considered. In order to select the optimum couple of values for these variables, eighteen experiments were performed, corresponding to a 3^2 factorial design applied to the Wine 1 spiked with 25 ng/L and 100 ng/L of the analytes (100 ng/L and 400 ng/L of mintlactone, respectively). The experiments were conducted at the following optimized conditions: 5 mL of sample, dilution 1:2 v/v with ultra-pure water, 4 g of NaCl, PDMS/DVB fiber coating, 500 rpm stirring speed. For each compound, the effect of the different combination time-temperature was evaluated in terms of absolute peak area and repeatability (RSD% of three replicate analyses). Results followed the same trend at the two spiking levels, Figure 3 reports the results relative to 100 ng/L spiking. The extraction profile of limonene was different respect to those of the other compounds. At both levels of spiking, limonene, the most hydrophobic among the analytes, was more efficiently extracted as both temperature and time increased. As concerns the other analytes, some common trends were found in the extraction profiles. At both spiking, regardless of the extraction time, the application of the highest temperature (60 °C) determined the lowest extraction efficiency, along with the highest RSD% in some cases. This could be due to competition for fiber adsorption with other wine compounds that volatilize more readily at higher temperature. For most of compounds (1,8-cineole, menthone, pulegone, carvone, piperitone) the best extraction in terms of absolute peak area and RSD% of three replicate extractions, was achieved by extraction of 80 min at 40 °C. However, an extraction time of 80 min was considered too long with a view of developing a fast method, therefore, considering the other tested time-temperature combinations, the best compromise considering the entire pool of compounds was 60 minutes of extraction at 50 °C.

3.3 Method validation

All validation parameters, such as linearity, detection and quantification limits, precision, and accuracy, were evaluated under optimum conditions. Tables 2 and 3 summarize the method validation results.

3.3.1 Linearity

For the calibration, linear least-square regression was applied to the relative peak areas (analyte versus internal standard) as a function of concentration. The optimized method was linear over a concentration range that encompassed the concentrations of minty compounds previously measured in red wines (Picard *et al.*, 2018), with determination coefficients between 0.9858 and 0.993 for all compounds (except limonene 0.9517), over the whole concentration range studied (Table 1).

3.3.2 Limits of detection and quantification

As expected, limits of detection and quantification varied for the different analytes. LODs and LOQs were between 3 and 60 ng/L and 6 and 200 ng/L, respectively (Table 1). For most of compounds these limits were low, in the range of few ng/L thus allowing the quantification of traces. Higher LOD and LOQ were found for limonene (36-116 ng/L), however these values allow to quantify the lowest concentrations usually found in wine (Noguerol-Pato *et al.*, 2009 Picard *et al.*, 2018). Also, mintlactone showed higher LOD and LOQ (60-200 ng/L, respectively), although the fiber for which it showed the best affinity was chosen and all the other conditions were optimized to enhance its detection.

3.3.3 Precision and accuracy

Repeatability and reproducibility were evaluated by relative standard deviation (Table 1). The repeatability (intra-day precision) was very good at both levels of spiking for all compounds (RSD≤11.6%), except limonene and carvone that at the lowest level of spiking showed a higher RSD% (18.8% and 25.1%, respectively). Also, the reproducibility (intra-day precision) was found to be very good for all compounds (RSD≤12.9%), while for limonene it had a higher value (23.3%).

The accuracy of the method was estimated by calculating the relative recoveries in five red Bordeaux wines, each spiked with three concentrations of the analytes (Table 2). This revealed a satisfactory recovery rate for all the compounds studied, ranging from 82 to 117% (mean recovery 89-109%) at the low spiking, from 83 to 119% (mean recovery 90-109%) at the medium spiking and from 80 to 119% (mean recovery 84-113%) at the high spiking.

3.4 Application of the method to the analyses of commercial wine samples

The optimized method was successfully applied to the analysis of the 9 compounds in a set of 14 red Bordeaux commercial wines, aged from 1 to 20 years. The quantification of the analytes was made on the basis of the calibration curves obtained in the linearity experiment. Mean concentrations (± standard deviations) are reported in Table 3. Few data are available on the content of limonene in wine, indicating that concentrations fall in a wide range, from about 100-326 ng/L in red wines (Noguerol-Pato *et al.*, 2009 Picard *et al.*, 2018) to few mg/L in some white wines (Vilanova & Sieiro, 2006). The results obtained in this study are in good agreement with previous data on red wines, as limonene concentrations ranged from 127 to 540 ng/L, only in one sample limonene level was below LOQ.

The molecule 1,8-cineole was one of the first to be identified as responsible for balsamic and eucalyptus notes in wine (Hervé, Price, & Burns, 2003). It is a terpenic constituent of grapes, where it decreases during ripening (Poitou, Thibon, & Darriet, 2017), however in young Australian wines, the presence of 1,8-cineole in relatively high amounts was attributed to airborne migration of the compound from the near eucalyptus tree to grapevine (Capone *et al.*, 2011). A similar origin from environmental plants was later proposed to explain high levels of 1,8-cineole in some red Bordeaux wines (between 1.04 and 2.38 µg/L) (Poitou *et al.*, 2017). Studies on accelerate ageing of wine or model solutions suggest that 1,8-cineole may also form through acid rearrangements of different terpenes of wine, mainly limonene and

α-terpineol, and accumulate during wine ageing (Fariña, Boido, Carrau, Versini, & Dellacassa, 2005; Slaghenaufi & Ugliano, 2018). In red wines, 1,8-cineole was found in a wide range of concentrations, from few ng/L to 30 µg/L (Capone *et al.*, 2011), however the highest levels were attributed to the migration from near eucalyptus plants. Most of wines analyzed in the current study had levels of 1,8-cineole comprised between 70 and 370 ng/L, only two samples had levels near 1 µg/L. Although a linear correlation was not found between wine age and 1,8-cineole concentration, the highest levels were found in two of the oldest wines analyzed (1221 and 925 ng/L in 1998 and 1999 vintages, respectively). In previous studies menthone, pulegone and carvone had been identified in red wine (Robinson *et al.*, 2011; Rocha, Coelho, Zrostlíková, Delgadillo, & Coimbra, 2007; Genovese, Dimaggio, Lisanti, Piombino, & Moio, 2005; Wildenradt, Christensen, Stackler, Caputi, Slinkard, & Scutt, 1975), however Picard *et al.* (2018) first reported consistent quantitative data. In the cited study, carvone concentrations ranged from 74 to 248 ng/L, and the levels determined in the present study (30-274 ng/L) well fit this range. Very small amounts of menthone and pulegone, (below 20 ng/L in most of the wines analyzed) were measured by Picard *et al.* (2018), and the same was found in the present study, except for a wine (Margaux 2001) that presented 208 ng/L of menthone and 170 ng/L of pulegone. It is interesting to note that in each wine both compounds had similar concentrations. Piperitone was the first compound to be identified in studies on the ageing bouquet of red Bordeaux wines (Picard *et al.*, 2016a; Pons, Lavigne, Darriet, & Dubourdieu, 2016). Previously reported levels of piperitone in red wines range from 35 to 1740 ng/L (Picard *et al.*, 2016a; Pons *et al.*, 2016; Picard *et al.*, 2018). A dependence of its levels on grape variety, geographical origin and vine water deficit was suggested (Picard, Van Leeuwen, Guyon, Gaillard, de Revel, & Marchand, 2017; Picard *et al.*, 2016b). The concentrations of piperitone determined in most of wines analyzed in the present study were consistent with those previously found (ranging from 25 to 1638 ng/L), however five wines presented higher levels (from 2119 to 6773 ng/L), with a tendency of higher concentrations in the oldest wines. However, in order to determine a correlation of significance between the concentration of piperitone and the age of wine a much larger data set would be necessary. Mintlactone was determined only in one of the analyzed wine at concentration of 207 ng/L, that corresponds to the lower levels in the range previously reported (227-987 ng/L) (Picard *et al.*, 2018). The two esters menthyl acetate and neomenthyl acetate are natural constituents of essential oils of peppermint (*Mentha x piperita* L.) (Schmidt et al, 2009). Menthyl acetate was previously identified in grape must (Furtuna, 2014) and in cider, where it derives from apple juice but is partially degraded by fermenting yeasts (Liu, Aung, Lee, & Yu, 2016). At the best of our knowledge, it is the first time that these two acetic acid esters are quantified in wine. Levels of menthyl acetate ranged from 20 to 295 ng/L, while neomenthyl acetate concentrations were between 222 and 2234 ng/L, except in a sample at 19 ng/L. Both esters present a minty, but also slightly fruity, odor (Table 1) and their sensory role in wine remains to be elucidated. For all these compounds the sensory role in the wine matrix must be explored, according to their levels and considering the perceptive interactions phenomena.

4. Conclusions

A method for the determination of a pool of minty terpenoids in red wine has been optimized using HS-SPME-Arrow extraction combined with gas chromatography and tandem mass spectrometry analysis. Different ionization energies were tested and a detection method at 30 eV was finally optimized. Under the optimized conditions of analysis, minty compounds can be reliably quantified, using a small amount of wine sample (5 mL) and with a procedure of extraction and analysis totally automated. The application of the validated method to the analysis of 14 red Bordeaux wines allowed to successfully determine the analytes, and for the first time menthyl acetate and neomenthyl acetate were quantified in wine. Moreover, huge differences in concentration among wines were enlightened for several compounds. The results obtained indicate that the proposed method could be a fast and reliable tool for the analysis of minty terpenoids in red wine. The new method will allow to quantify the minty terpenoids in large experiment trials and to shed light on several aspects not yet known, such as their origin and formation in wine, their sensory role, the dependence on grape variety and the influence of viticultural and oenological practices on their concentration and evolution over time.

Acknowledgements

The authors are thankful to Thermo Fisher Scientific France and Thermo Fisher Scientific Italy for giving them the opportunity to develop analytical methods using the new SPME-Arrow extraction technique coupled to a tandem mass spectrometry detector, for the technical support concerning the SPME-Arrow-GC-MS/MS instrumentation and for the supply of SPME-Arrow fibers.

Conflict of interest

Despite the support mentioned under acknowledgements, no conflict of interest influenced the work presented in this article. The experiments and results reported herein are those of the authors and do not represent the position of the supporting company.

5. References

Capone, D. L., Van Leeuwen, K., Taylor, D. K., Jeffery, D. W., Pardon, K. H., Elsey, G. M., & Sefton, M. A. (2011). Evolution and occurrence of 1,8-cineole (Eucalyptol) in Australian wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*, 953-959.

Cordero, C., Schmarr, H. G., Reichenbach, S. E., & Bicchi, C. (2017). Current developments in analyzing food volatiles by multidimensional gas chromatographic techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *66*, 2226-2236.

Duhamel, N., Slaghenaufi, D., Pilkington, L. I., Herbst-Johnstone, M., Larcher, R., Barker, D., & Fedrizzi, B. (2018). Facile gas chromatography–tandem mass spectrometry stable isotope dilution method for the quantification of sesquiterpenes in grape. *Journal of Chromatography A*, *1537*, 91-98.

Ebeler, S. E. (2001). Analytical chemistry: Unlocking the secrets of wine flavor. *Food Reviews International*, *17*, 45-64.

Fariña, L., Boido, E., Carrau, F., Versini, G., & Dellacassa, E. (2005). Terpene compounds as possible precursors of 1, 8-cineole in red grapes and wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*, 1633-1636.

Furtuna, N. (2014). Analysis of volatile compounds in three grape varieties of local selection from Republic of Moldova. *Research & Science Today*, *7*, 124-131.

Genovese, A., Dimaggio, R., Lisanti, M. T., Piombino, P., & Moio, L. (2005). Aroma composition of red wines by different extraction methods and gas chromatography-SIM/mass spectrometry analysis. *Annali di Chimica: Journal of Analytical, Environmental and Cultural Heritage Chemistry*, *95*, 383-394.

Herrington, J. S., Gómez-Ríos, G. A., Myers, C., Stidsen, G., & Bell, D. S. (2020). Hunting Molecules in Complex Matrices with SPME Arrows: A Review. *Separations*, *7*, 12.

Herve, E.; Price, S.; Burns, G., In Proceedings VIIeme Symposium` International d'OEnologie, Actualiteś OEnologiques, Bordeaux; Lonvaud, A., De Revel, G., Darriet, P., Eds.; Tec & Doc; Lavoisier: Paris, France, 2003; pp 598−600.

Langen, J., Wang, C. Y., Slabizki, P., Wall, K., & Schmarr, H. G. (2013). Quantitative analysis of γ-and δ-lactones in wines using gas chromatography with selective tandem mass spectrometric detection. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, *27*(24), 2751-2759.

Le Menn, N., Van Leeuwen, C., Picard, M., Riquier, L., de Revel, G., & Marchand, S. (2019). Effect of vine water and nitrogen status, as well as temperature, on some aroma compounds of aged red Bordeaux wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *67*, 7098-7109.

Liu, S. Q., Aung, M. T., Lee, P. R., & Yu, B. (2016). Yeast and volatile evolution in cider co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* and *Williopsis saturnus*. *Annals of Microbiology*, *66*, 307-315.

Mayr, C. M., Capone, D. L., Pardon, K. H., Black, C. A., Pomeroy, D., & Francis, I. L. (2015). Quantitative analysis by GC-MS/MS of 18 aroma compounds related to oxidative off-flavor in wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*, 3394-3401.

Nasi, A., Ferranti, P., Amato, S., & Chianese, L. (2008). Identification of free and bound volatile compounds as typicalness and authenticity markers of non-aromatic grapes and wines through a combined use of mass spectrometric techniques. *Food Chemistry*, *110*, 762-768.

Noguerol-Pato, R., González-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., & Simal-Gándara, J. (2009). Quantitative determination and characterisation of the main odourants of Mencía monovarietal red wines. *Food Chemistry*, *117*, 473-484.

Pawliszyn, J. (Ed.). (2012). *Handbook of solid phase microextraction*. Elsevier.

Perestrelo, R., Caldeira, M., & Câmara, J. S. (2012). Solid phase microextraction as a reliable alternative to conventional extraction techniques to evaluate the pattern of hydrolytically released components in Vitis vinifera L. grapes. *Talanta, 95*, 1-11.

Picard, M., de Revel, G., & Marchand, S. (2017a). First identification of three p-menthane lactones and their potential precursor, menthofuran, in red wines. *Food Chemistry, 217*, 294-302.

Picard, M., Franc, C., de Revel, G., & Marchand, S. (2018). Dual solid-phase and stir bar sorptive extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry analysis provides a suitable tool for assaying limonene-derived mint aroma compounds in red wine. *Analytica chimica acta, 1001*, 168-178.

Picard, M., Lytra, G., Tempere, S., Barbe, J. C., de Revel, G., & Marchand, S. (2016a). Identification of piperitone as an aroma compound contributing to the positive mint nuances perceived in aged red Bordeaux wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 64*, 451-460.

Picard, M., Tempere, S., de Revel, G., & Marchand, S. (2015). A sensory study of the ageing bouquet of red Bordeaux wines: A three-step approach for exploring a complex olfactory concept. *Food Quality and Preference, 42*, 110-122.

Picard, M., Tempere, S., de Revel, G., & Marchand, S. (2016b). Piperitone profiling in fine red Bordeaux wines: geographical influences in the Bordeaux region and enantiomeric distribution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 64*, 7576-7584.

Picard, M., Van Leeuwen, C., Guyon, F., Gaillard, L., de Revel, G., & Marchand, S. (2017b). Vine water deficit impacts aging bouquet in fine red Bordeaux wine. *Frontiers in Chemistry, 5*, 56.

Poitou, X., Thibon, C., & Darriet, P. (2017). 1,8-Cineole in French red wines: evidence for a contribution related to its various origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65*, 383-393.

Polášková, P., Herszage, J., & Ebeler, S. E. (2008). Wine flavor: chemistry in a glass. *Chemical Society Reviews, 37*, 2478-2489.

Pons, A., Lavigne, V., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2016). Identification and analysis of piperitone in red wines. *Food Chemistry, 206*, 191-196.

Robinson, A. L., Boss, P. K., Heymann, H., Solomon, P. S., & Trengove, R. D. (2011). Development of a sensitive non-targeted method for characterizing the wine volatile profile using headspace solid-phase microextraction comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A, 1218*, 504-517.

Rocha, S. M., Coelho, E., Zrostlíková, J., Delgadillo, I., & Coimbra, M. A. (2007). Comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry of monoterpenoids as a powerful tool for grape origin traceability. *Journal of Chromatography A, 1161*, 292-299.

Schmidt, E., Bail, S., Buchbauer, G., Stoilova, I., Atanasova, T., Stoyanova, A., Krastanov, A., & Jirovetz, L. (2009). Chemical composition, olfactory evaluation and antioxidant effects of essential oil from *Mentha* x *piperita*. *Natural Product Communications, 4*, 1107-1112.

Slaghenaufi, D., & Ugliano, M. (2018). Norisoprenoids, sesquiterpenes and terpenoids content of Valpolicella wines during aging: Investigating aroma potential in relationship to evolution of tobacco and balsamic aroma in aged wine. *Frontiers in Chemistry*, *6*, 66.

Van Leeuwen, C., & Darriet, P. (2016). The impact of climate change on viticulture and wine quality. *Journal of Wine Economics*, *11*, 150-167.

Vilanova, M., & Sieiro, C. (2006). Determination of free and bound terpene compounds in Albarino wine. *Journal of Food Composition and Analysis*, *19*, 694-697.

Welke, J. E., Manfroi, V., Zanus, M., Lazarotto, M., & Zini, C. A. (2012). Characterization of the volatile profile of Brazilian Merlot wines through comprehensive two dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, *1226*, 124-139.

Wildenradt, H. L., Christensen, E. N., Stackler, B., Caputi, A., Slinkard, K., & Scutt, K. (1975). Volatile constituents of grape leaves. I. *Vitis vinifera* variety 'Chenin blanc'. *American Journal of Enology and Viticulture*, *26*, 148-153.

Zhang, X., Wang, C., Wang, L., Chen, S., & Xu, Y. (2020). Optimization and validation of a head space solid-phase microextraction-arrow gas chromatography-mass spectrometry method using central composite design for determination of aroma compounds in Chinese liquor (Baijiu). *Journal of Chromatography A*, *1610*, 460-584.

Ziegler, M., & Schmarr, H. G. (2019). Comparison of solid-phase microextraction using classical fibers versus mini-arrows applying multiple headspace extraction and various agitation techniques. *Chromatographia*, *82*, 635-640.

Figure captions

Figure 1. Extraction efficiency of the different SPME Arrow fiber coatings tested. For each analyte, the highest peak area was considered 100%.

Figure 2. Effect of sample dilution on extraction of the analytes. Peak areas were normalized respect to the respective non-diluted sample.

Figure 3. Effect of different combinations of extraction time and temperature on SPME-Arrow extraction efficiency. T = temperature (°C), t = time (min).

Figure 1S. General chemical structures of the aroma compounds analyzed.

Figure 2S. Absolute peak areas of the quantifier transitions of the analytes for the optimized MS-MS methods at four different ionization energies.

Figure 3S. Effect of stirring speed on SPME Arrow extraction efficiency.

Figure 4S. Effect of salt addition on SPME Arrow extraction efficiency.

Table 1S. Chemical-physical properties, retention time (RT), SRM transitions, and collision energies of the studied compounds (in bold quantifier transitions).

Compound	Molecular weight (g/mol)	Boiling point (°C)[a]	Log P [b]	RT (min)	Precursor ions (*m/z*)	Product ions (*m/z*)	Collision energy (V)
limonene	136.2	176	4.8	17.3	**93**	**77**	12
					93	91	8
					121	93	8
1,8-cineole	154.2	176.4	3.1	17.5	**108**	**93**	6
					84	69	6
					108	77	6
camphor (IS)	152.2	207.4	3.0	24.9	**108**	**93**	8
					95	67	10
					152	108	6
menthone	154.2	207	2.9	25.6	**112**	**97**	6
					154	139	6
					112	70	10
pulegone	152.2	224	3.2	31.4	**152**	**81**	10
					81	79	8
					152	137	6
carvone	150.2	231	3.1	31.7	**82**	**54**	6
					108	93	8
					108	77	20
piperitone	152.2	233	3.1	32.4	**110**	**95**	8
					82	54	6
					110	77	20
neomenthyl acetate	198.3	234.5*	4.4	33.9	**138**	**95**	10
					95	67	10
					123	81	10
menthyl acetate	198.3	229.5	4.4	35.2	**138**	**95**	10
					95	67	10
					123	81	10
mintlactone	166.2	285.19*	1.9	47.4	**166**	**81**	14
					137	109	6
					166	138	6

[a] Experimental boiling point at 760 mm Hg (EPI Suite v.4.11 TM United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA), asterisk indicates predicted boiling point
[b] Theoretical LogP (decimal logarithm of octanol-water partition coefficient) were calculated using EPI Suite v.4.11 TM United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA

596

Table 1. Validation parameters (linearity, LOD and LOQ, repeatability, and reproducibility) of the optimized SPME Arrow-GC/MS-MS method.

Compound	Odour [a]	Linearity			Detection and quantification limits		Intraday precision (repeatability)						Interday precision (reproducibility)	
		Concentration range (ng/L)	R^2	slope	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)	spiking 1 (ng/L)	Mean concentration	RSD (%)	spiking 2 (ng/L)	Mean concentration	RSD (%)	Mean concentration	RSD (%)
limonene	Terpenic, herbal, citrus	695-2976	0.9517	0.0003096	36	116	0	864	18.8	380.2	945	11.0	1146	23.3
1,8-cineole	Eucalyptus, herbal, camphor	34.9-2480	0.9971	0.0003503	20	60	24.5	59.6	5.8	245.0	291	1.7	284.0	9.8
menthone	Minty	5.8-3759	0.9978	0.0004005	3	6	37.6	46.0	3.5	375.8	391	3.2	385.3	9.6
pulegone	Minty, camphor, herbal	6.0-2989	0.9986	0.0001493	3	8	29.9	32.6	5.0	298.9	311	4.2	284.3	7.8
carvone	Minty, herbal, spicy	32.8-2931	0.9913	0.0001541	9	27	29.0	53.9	25.1	290.4	266	11.6	283.9	10.9
piperitone	Peppermint, fresh, herbal	13.8-3805	0.9993	0.0002478	5	17	37.9	50.6	6.2	379.5	386	5.3	383.0	7.2
neomenthyl acetate	Tender minty, slightly fruity	18.0-2540	0.9952	0.0005395	3	11	25.2	42.3	7.9	252.5	279	7.5	283.9	12.9
menthyl acetate	Minty, ethereal, fruity	14.4-3465	0.9914	0.0005733	4	15	34.5	50.4	6.0	345.4	370	7.8	390.1	12.8
mintlactone	Minty	103-2574	0.9858	0.0000064	60	200	618	617	11.6	1544	1700	6.2	1355	11.1

[a] Picard et al., 2018; Schmidt et al., 2009; www.thegoodscentscompany.com

Table 2. Analyte recoveries using the optimized SPME Arrow-GC/MS-MS method on a set of five red Bordeaux wines.

Compound	Initial concentration		Theoretical concentration of spiking 1 (ng/L)	Range of experimental concentration of spiking 1 (ng/L, n=5)	Recovery (%, n=5)			Theoretical concentration of spiking 2 (ng/L)	Range of experimental concentration of spiking 2 (ng/L, n=5)	Recovery (%, n=5)			Theoretical concentration of spiking 3 (ng/L)	Range of experimental concentration of spiking 3 (ng/L, n=5)	Recovery (%, n=5)		
	Range (ng/L)	RSD (%)			Range	Mean	SD			Range	Mean	SD			Range	Mean	SD
limonene	69 - 506	1 - 11	665	546 - 780	82 - 117	102	14	1188	1050 - 1399	88 - 118	102	12	1758	1654 - 2045	94 - 116	104	9
1,8-cineole	80 - 1221	1 - 6	49	43 - 49	88 - 100	93	5	784	671 - 823	86 - 105	99	8	1813	1695 - 1903	93 - 105	96	5
menthone	7 - 22	1 - 8	23	20 - 22	87 - 96	94	4	1202	1013 - 1185	84 - 99	94	6	2781	2492 - 2720	90 - 98	93	3
pulegone	<LOQ - 19	2 - 8	36	33 - 36	92 - 100	96	4	956	825 - 913	86 - 95	91	4	2212	1891 - 2009	85 - 91	87	3
carvone	<LOQ - 58	2 - 8	232	192 - 223	83 - 96	89	5	929	796 - 892	86 - 96	91	4	2149	1789 - 1947	83 - 91	87	3
piperitone	25 - 2312	1 - 6	152	140 - 174	92 - 115	100	10	1214	1070 - 1234	88 - 102	93	5	2808	2274 - 2434	81 - 87	84	2
neomenthyl acetate	246 - 2234	2 - 8	101	99 - 108	98 - 107	102	4	808	676 - 959	84 - 119	102	16	1869	1522 - 2020	81 - 108	101	11
menthyl acetate	31 - 175	1 - 12	138	144 - 157	104 - 114	109	3	1105	1011 - 1319	91 - 119	109	10	2556	2727 - 3049	107 - 119	113	6
mintlactone	<LOQ		721	593 - 739	82 - 103	94	7	1287	1065 - 1236	83 - 96	90	5	1905	1526 - 1772	80 - 93	87	6

Table 3. Mean concentrations (± SD) determined in the 14 red Bordeaux wines analyzed.

Wine samples			Mean concentrations (ng/L, n=3)								
Appellation	Vintage	Ageing (years)	limonene	1,8-cineole	menthone	pulegone	carvone	piperitone	neomenthyl acetate	menthyl acetate	mintlactone
Blaye	2014	4	467 ± 2	70 ± 3	7 ± 1	< LOQ	35 ± 1	36 ± 1	19 ± 1	22 ± 2	n. d.
Listrac-Médoc	2001	17	359 ± 56	209 ± 10	30.0 ± 0.1	9.4 ± 0.2	< LOQ	1638 ± 49	830 ± 46	20 ± 2	n. d.
Margaux	2001	17	451 ± 34	86 ± 3	6.1 ± 0.5	<LOQ	< LOQ	548 ± 15	1443 ± 124	32 ± 1	n. d.
Margaux	2009	9	540 ± 34	285 ± 13	208 ± 5	170 ± 9	274 ± 24	444 ± 38	240 ± 20	295 ± 16	207 ± 15
Pauillac	1998	20	262 ± 23	108 ± 4	< LOQ	9 ± 1	30 ± 4	1637 ± 94	1469 ± 96	32 ± 1	n. d.
Pessac-Léognan	2008	10	154 ± 17	100 ± 4	8.7 ± 0.4	< LOQ	36 ± 4	37 ± 2	222 ± 23	28 ± 3	n. d.
Pomerol	1998	20	< LOQ	80 ± 3	7.3 ± 0.4	< LOQ	< LOQ	25 ± 1	2234 ± 184	24 ± 3	n. d.
Pomerol	1999	19	445 ± 30	144 ± 5	53 ± 3	47 ± 5	53 ± 4	3592 ± 300	n. d.	26 ± 2	n. d.
Saint-Emilion	1998	20	127 ± 15	1221 ± 71	13 ± 1	< LOQ	58 ± 5	55 ± 4	993 ± 72	31 ± 1	n. d.
Saint-Emilion	1999	19	245 ± 15	925 ± 10	18 ± 2	19.2 ± 0.4	56 ± 5	6773 ± 131	1242 ± 52	36 ± 1	< LOQ
Saint-Emilion	2000	18	292 ± 6	370 ± 9	14 ± 1	15 ± 1	33 ± 1	4258 ± 158	1288 ± 53	54 ± 1	n. d.
Saint-Emilion	2017	1	506 ± 55	110 ± 6	8.0 ± 0.3	< LOQ	< LOQ	44 ± 2	246 ± 5	175 ± 14	n. d.
Saint-Estèphe	1999	19	205 ± 13	279 ± 10	15 ± 1	16.2 ± 0.3	38 ± 1	2312 ± 30	1051 ± 19	20 ± 2	n. d.
Saint-Estèphe	2000	18	183 ± 9	164 ± 2	21.9 ± 0.3	19 ± 1	31 ± 1	2119 ± 128	1030 ± 73	29.0 ± 0.4	n. d.

n.d = not detected; LOQ = limit of quantification

Composition et origine du bouquet de vieillissement des vins rouges de Bordeaux. Influences du terroir dans l'expression aromatique des vins vieux.

Les vins qui apportent probablement le plus de plaisir et de magie aux amateurs sont très souvent les vins dits « de garde ». Ce sont des bouteilles que l'on conserve de nombreuses années et avec lesquelles on dépose l'espoir d'une grande dégustation. À l'ouverture, le dégustateur espérera découvrir la complexité et l'élégance du bouquet de vieillissement. Ce concept olfactif, mêlant de manière harmonieuse les odeurs produites au cours du vieillissement en bouteille à celles du vin jeune, est le cadeau qu'offre les grands vins aux épicuriens patients. L'expression du bouquet serait très intimement liée aux terroirs et au millésime, révélée par le passage du temps. Ce travail de thèse est essentiellement consacré à démonter et affiner cette connaissance empirique.
Dans un premier temps, le dosage de plusieurs molécules liées à la composition de la baie de raisin, aux activités fermentaires et au vieillissement a été effectué dans 80 vins issus de « verticales » de différents crus du vignoble de Bordeaux. L'analyse des résultats montrent que les crus possèdent une identité moléculaire propre malgré la variabilité due aux millésimes et aux âges des vins. La présence de dérivés terpéniques, issus du métabolisme végétal, est fondamentale dans la construction de cette identité. Cette différenciation des crus montre l'importance de la composition du raisin, exprimant un terroir, sur l'identité des vins vieux.
Dans un second temps, des paramètres du terroir (statut hydrique, statut azoté et cépage par exemple) ont été confrontés aux quantités des molécules ciblées pour l'étude et mesurées par des techniques de chromatographie en phase gazeuse. Ces travaux ont nécessité le développement d'outils analytiques ainsi que la mise en place de plans expérimentaux à diverses échelles (laboratoire à unités de production viticole). Enfin, dans l'objectif d'obtenir des outils susceptibles de nous aider à prédire le potentiel de garde et l'apparition du bouquet, l'étude des précurseurs des arômes du bouquet a été entamée. Parmi les composés qui influenceraient l'expression du bouquet, le sulfure de diméthyle (DMS) présente de multiples caractères organoleptiques. Il participe à la fois au caractère « fruits frais » et « truffe » des vins vieux. L'influence de paramètres viticoles sur les teneurs en précurseurs du DMS (pDMS) a été étudiée ainsi que la modulation de ses teneurs au cours de la vie du vin. Le DMS, par le biais de la mesure de son potentiel, est largement influencé par les conditions du millésime et par la phase de maturation du raisin. Cependant, les conditions fermentaires constituent un réel enjeu sur sa préservation au cours de la vinification et donc sa gestion à la mise en bouteille. Enfin, la libération du DMS au cours du vieillissement est dépendante de la matrice puisque des interactions avec les tanins du raisin interviennent. Dans ce cadre, le comportement du DMS au cours de l'acte de dégustation a été précisé. Le DMS pourrait donc être un bon marqueur à la fois du terroir, de la gestion des fermentations mais aussi du mode de service du vin vieux. Cette thèse aborde et ouvre de nombreuses questions sur l'origine moléculaire d'autres composés d'intérêt, l'importance des conditions fermentaires ou encore l'influence des conditions de la garde des vins sur le potentiel de vieillissement et le caractère aromatique des vins vieux.

Mots clés : Œnologie, vieillissement des vins, arômes, précurseurs, terroir, chimie analytique

Composition and origin of aging bouquet of Bordeaux red wines. Influences of terroir on the flavor of aged wines.

Among wines, those which impart the most pleasure and magic to amateurs are very often aged wines. These are bottles preserved for many years in the hope of a great tasting. Upon opening, the taster will expect to discover the complexity and elegance of the wine's aging bouquet. This olfactory concept, in which aromas produced during bottle aging blend harmoniously with those of the wine's youth, is the gift offered by great wines to epicureans. The expression of the bouquet is purported to be very closely linked to the terroir and the vintage, both revealed during the course of aging. This thesis work is essentially devoted to demonstrating and detailing this empirical knowledge.
Firstly, quantitative analysis was carried out on several molecules linking the composition of grape berries to fermentation activities and to aging. Eighty wines of different vintages from several Bordeaux vineyards "Châteaux" were studied. Analysis of the results showed that the wines each have their own molecular identity despite variability due to vintage and age. The presence of terpene compounds, derived from plant metabolism, is fundamental in the construction of this identity. This differentiation of the wines at a molecular level shows the importance of grape composition and the expression of terroir on the identity of old wines.
Secondly, the parameters of the terroir (water status, nitrogen status, and grape variety, for example) were compared to the concentrations of the aromas studied, which were measured using gas chromatography techniques. This work required the development of analytical tools as well as the designing of several experiments on various scales (from laboratory to wine production units). Finally, with the aim of obtaining tools that could help predict the aging potential and the emergence of the bouquet, an additional study focusing on the precursors of bouquet aromas was initiated. Among the compounds that influence the expression of the bouquet, dimethyl sulfide (DMS) has multiple organoleptic characteristics, contributing to the "fresh fruit" and "truffle" characters of old wines. The influence of wine-growing parameters on the levels of DMS precursors (pDMS) was studied. The modulation of its levels was also explored. DMS levels, determined through the measurement of its potential, are largely influenced by the conditions of the vintage and by the stage of ripeness of the grape. However, fermentation conditions constitute a real issue for its preservation during winemaking and therefore its management at bottling. The release of DMS during aging depends on the matrix since interactions with grape tannins take place. In that context, the behavior of the DMS during tasting was clarified. The DMS could therefore be a good marker both of the terroir and the management of fermentation, as well as the way of serving old wine. This thesis presents many questions on the molecular origins of other compounds of interest, and the influence of fermentation and wine aging conditions on the aging potential and aromatic character of old wines.

Key words: Oenology, wine aging, aromas, precursors, terroir, analytical chemistry

Institut des Sciences de la Vigne et du Vin – Unité de Recherche Œnologie EA 4577
210 Chemin de Leysotte CS 50008 – 33882 VILLENAVE D'ORNON Cedex